Aus dem Institut für Physiologische Chemie II
der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. W. STAIB

Akute Glucocorticoid- und Insulinwirkungen am isoliert perfundierten Hinterkörper adrenalektomiert-diabetischer Ratten

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Hans Joachim Coone

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus dem Institut für Physiologische Chemie II
der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. W. STAIB

Akute Glucocorticoid- und Insulinwirkungen am isoliert perfundierten Hinterkörper adrenalektomiert-diabetischer Ratten

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Hans Joachim Coone

1982

»Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf«

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. G. Arnold

Referent
gez.: Prof. Dr. W. Staib

Korreferent
gez.: Prof. Dr. F. A. Gries

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Gliederung des Versuchsplans	3
Material und Methodik	
A) Vorbehandlung der Versuchstiere	4
B) Versuchstier-Präparation	4
C) Zusammensetzung des Perfusionsmediums	5
D) Perfusionsablauf	6
E) Pharmaka	6
F) Analysenmethodik	8
G) Auswertung und Statistik	12
Ergebnisse	
in vivo-Untersuchungen	
A) Gewichtsverhalten der adrenalektomiert-diabetischen Ratten	13
B) Charakterisierung des Streptozotocin-Diabetes	13
C) Einfluß von Betamethason auf den Blutzuckerspiegel adrenalektomiert-diabetischer Ratten	16
D) Leber- und Muskelglykogen	17
Perfusionsexperimente	
A) Angaben zum Hinterkörperpräparat	18
B) Kontrollkriterien für die Perfusion	18
C) Glucose	22
D) Lactat	24
E) Pyruvat	26
F) Lactat-Pyruvat-Quotienten	27
G) Alanin	28
H) Glutamat	30
I) Glutamin	31
J) Muskelmetabolite	33
a) Glucose	33
b) Glucose-6-phosphat	33
c) Lactat	34
d) Pyruvat	34

Seite

e) Citrat 35
f) Glykogen 36
g) Alanin 37

Anhang (Ergebnistabellen) 38

Zusammenfassung der Ergebnisse der Perfusionsexperimente 42

Diskussion

Streptozotocin als Diabetogenicum 43

in vivo-Befunde zum Zeitpunkt der Perfusion
Glykogengehalte von Muskel und Leber adrenalektomiert-diabetischer Ratten 45

Perfusionsexperimente
A) Glucoseaufnahme des Hinterkörper-Präparates 48
B) Glykogensynthese im M.gastrocnemius 51
C) Freisetzung gluconeogenetischer Präcursoren durch die Muskulatur 52
a) Lactat 52
b) Pyruvat 54
c) Alanin 55
D) Glutaminproduktion des perfundierten Hinterkörpers 60

Zusammenfassung 63

Literaturverzeichnis 65

Einleitung

Die Experimente am isoliert perfundierten Hinterkörper adrenalektomiert-diabetischer Ratten schließen sich an Arbeiten aus unserem Institut an, die am gleichen Modell mit Normaltieren (80,140), diabetischen (140) und adrenalektomierten Ratten (80,136) durchgeführt wurden.
In diesen Untersuchungen zur Wirkungsweise der Glucocorticoide auf den Muskelstoffwechsel zeigte sich, daß schon kurze Zeit nach einmaliger Betamethasongabe ein signifikanter Anstieg der Alaninfreisetzung stattfindet. Gleichzeitig kommt es zu einer Abnahme der Glucoseutilisation durch die Muskulatur. Die Anwesenheit von Insulin steigert die Glucoseaufnahme und senkt die Alaninfreisetzung.
Ein Schwerpunkt der hier vorgestellten Untersuchungen soll der Abklärung der Fragestellung dienen, ob die am adrenalektomierten Tier gefundene relativ geringe Hemmung der Glucoseaufnahme durch die Muskulatur einen genuinen Glucocorticoideffekt darstellt, und inwieweit diese Wirkung des Betamethasons unter dem Einfluß des Insulins relativiert wird.
Die Wahl des Versuchsobjektes -„adrenalektomiert-diabetische Ratte"- ist geeignet, bei isolierter und kombinierter Substitution von Glucocorticoiden und Insulin die Interaktion beider Hormone auf den Muskelmetabolismus darzulegen.
Es liegen praktisch keine Untersuchungen über den Skelettmuskelstoffwechsel adrenalektomiert-diabetischer Ratten vor.
Die Studien von KRAHL & CORI (76) sowie SMITH & LONG (130, 131) an diesem nicht einfach zu handhabenden Modell geben aufgrund der Auswahl des Muskelpräparates (Diaphragma) bzw. der Tierpräparation (eviszeriertes Tier) nur wenig Aufschluß über die Stoffwechselfunktionen des Skelettmuskelgewebes in diesem bihormonalen Mangelzustand als auch im Wirkgefüge der beiden substituierten Hormone.

UNIV. LEIDEN BIBL.

Wie frühere Untersuchungen zeigen,wird die Produktion der beiden aus der Muskulatur bevorzugt freigesetzten Aminosäuren Alanin und Glutamin durch Glucocorticoide wesentlich beeinflußt (140).
Am adrenalektomiert-diabetischen Tier soll gezeigt werden,wie die Glucocorticoid-Insulin-abhängige Regulation der muskulären Alanin- und auch Glutaminfreisetzung sich manifestiert,und wie die beiden Hormone sich wechselseitig beeinflussen.
Die durchgeführten Untersuchungen vermögen vielleicht auch ein Licht auf ein Krankheitsbild zu werfen,das als das humanmedizinische Pendant zum adrenalektomiert-diabetischen Versuchstier anzusehen ist.
Es handelt sich um die Koinzidenz von Morbus Addison und Diabetes mellitus (4,5,6,9,16,17,30,31,40,51,72,74,97, 111,129,134,139,143).
Die erste Beschreibung eines derartigen Falles wird auf 1866 datiert,und bis zum Jahre 1971 waren davon rund 160 Fälle bekannt (31).
Klinische Aspekte,die -abweichend von Befunden beim isolierten Diabetes mellitus- in der Literatur zu diesem Krankheitsbild mitgeteilt werden,sind eine Steigerung der Kohlenhydrat-Toleranz (5),eine Abnahme des Insulinbedarfs (5,16,30,51,129) sowie eine gesteigerte Insulinempfindlichkeit (5,30,31);außerdem wird von einem schwankenden Blutzuckerniveau (5,31,51,129),dem Fehlen von Ketose (9, 129) und häufigen hypoglykämischen Attacken (9,31,51) berichtet.

Gliederung des Versuchsplans

Der isoliert perfundierte Hinterkörper der Ratte,ein den in vivo-Bedingungen sehr nahe kommendes Versuchsmodell, fand auch für die vorliegenden Untersuchungen über den Skelettmuskelstoffwechsel adrenalektomiert-diabetischer Ratten Verwendung.
Alle Versuche wurden sowohl mit gefütterten als auch mit 24 Stunden gefasteten Tieren durchgeführt,da sich im Verlauf der experimentellen Arbeiten zeigte,wie sehr die Stoffwechsellage adrenalektomiert-diabetischer Ratten durch den Fütterungszustand beeinflußt wird.
Neben den unbehandelten adrenalektomiert-diabetischen Kontrollgruppen wurden in den beiden folgenden Versuchsgruppen die Kurzzeit-Glucocorticoid- und Kurzzeit-Insulineinflüsse auf den Muskelstoffwechsel dieser Tiere untersucht.Die letzte Versuchsgruppe,in der Betamethason und Insulin kombiniert gegeben wurden,sollte Aufschlüsse darüber vermitteln,inwieweit der Glucocorticoideffekt auf die Muskulatur durch Insulin eine Modulation erfährt.

Tab. 1

Einteilung der Versuchsgruppen

Vorbereitung der Versuchstiere: 6 Tage vor der Perfusion bilaterale Adrenalektomie und Streptozotocin-Applikation ; Haltung bei Standard-Kost, 0,9%ige NaCl-Lösung ad lib.				
ADX-DIAB	ADX-DIAB+B		ADX-DIAB+I	ADX-DIAB+B+I
keine Nahrungsrestriktion n=5	keine Nahrungsrestriktion 3,5 h vor Perfusionsbeginn 0,5 mg Betamethason/100g Körpermasse i.p. n=5	gefüttert	keine Nahrungsrestriktion Zusatz von 0,5 mU Insulin/ml zum Perfusionsmedium 5 min vor Perfusionsbeginn n=5	keine Nahrungsrestriktion 3,5 h vor Perfusionsbeginn 0,5 mg Betamethason/100g Körpermasse i.p. Zusatz von 0,5 mU Insulin/ml zum Perfusionsmedium 5 min vor Perfusionsbeginn n=5
Nahrungsentzug 24 h vor Perfusionsbeginn n=5	Nahrungsentzug 24 h vor Perfusionsbeginn 3,5 h vor Perfusionsbeginn 0,5 mg Betamethason/100g Körpermasse i.p. n=5	gehungert	Nahrungsentzug 24 h vor Perfusionsbeginn Zusatz von 0,5 mU Insulin/ml zum Perfusionsmedium 5 min vor Perfusionsbeginn n=5	Nahrungsentzug 24 h vor Perfusionsbeginn 3,5 h vor Perfusionsbeginn 0,5 mg Betamethason/100g Körpermasse i.p. Zusatz von 0,5 mU Insulin/ml zum Perfusionsmedium 5 min vor Perfusionsbeginn n=5

Material und Methodik

A) Vorbehandlung der Versuchstiere

Die Versuche wurden durchgeführt mit männlichen Albinoratten des Wistar-Inzuchtstammes (Tierversuchsanlage der Universität Düsseldorf).
Sechs Tage vor der Perfusion erfolgte in Hexobarbital-Narkose die bilaterale Adrenalektomie von dorsal und die intraperitoneale Applikation der Streptozotocin-Dosis in den linken Oberbauch,ebenfalls von dorsal.
Die Tiere wurden bei einer Standard-Diät (altromin Standard-Diät Ratten-Mäuse;Altrogge Spezialfutterwerk GmbH & Co KG,Lage) gehalten und erhielten nach der Adrenalektomie als Trinkwasser 0,9%ige Kochsalz-Lösung.
24 Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Ratten der „gehungerten" Versuchsreihen die Nahrung entzogen,jedoch die NaCl-Lösung weiterhin gegeben.
Die Versuchstiere,die mit Betamethason vorbehandelt wurden,erhielten 3,5 Stunden vor Perfusionsbeginn eine intraperitoneale Injektion mit 5 mg Betamethason/kg Körpergewicht.

B) Versuchstier-Präparation

Die Ratten wurden in Hexobarbital-Narkose (150 mg Evipan^{R}-Natrium/kg Körpergewicht i.p.) operiert,das Blut mit Liquemin^{R} (0,2 ml ≙ 1000 USP-E Heparin i.p.) ungerinnbar gemacht.
Die chirurgische Präparation des isolierten Hinterkörpers folgte im wesentlichen den Angaben von RUDERMAN et al. (116).Eine ausführlichere Beschreibung gibt STASCHOK (136).
Nach Eröffnen der Bauchhöhle durch einen Medianschnitt und Unterbindung diverser Gefäße sowie der Ureteren erfolgte die Eviszeration des Beckens und der Bauchhöhle.
Daran schloß sich die Kanülierung von Aorta (Braunüle^{R} 0,5; Fa.B.Braun Melsungen AG) und V.cava inf. (Braunüle^{R} 1,0) an,wobei ein ischämisches Intervall von ca. drei Minuten auftrat.Es folgte der Anschluß an die Vorperfusion (Spülung des Hinterkörpers mit 70 ml Perfusionsmedium).

Die anschließende Abquetschung des Hinterkörpers unterhalb der unteren Nierenpole mittels einer Metallstange diente zur Ausschaltung neuraler Einflüsse über das Rückenmark und zur Verhinderung möglicher Verluste von Perfusionsmedium über die Wirbelvenenplexus in kraniale Körperabschnitte.
Nach Abklemmen des Schwanzes und Abschluß der Vorperfusion beendete der Anschluß des Hinterkörpers an die rezirkulierende Perfusion die Präparation.
Die rezirkulierende Perfusion stellt ein geschlossenes System dar, das in einer Kammer bei 37°C thermostatisiert wurde. Der hydrostatische arterielle Druck betrug 80 mm Hg. Zu Beginn der Rezirkulation befanden sich 100 ml Medium im System. Das Medium wurde konstant mit Carbogen (95% O_2 , 5% CO_2) begast.

C) Zusammensetzung des Perfusionsmediums

Tab. 2

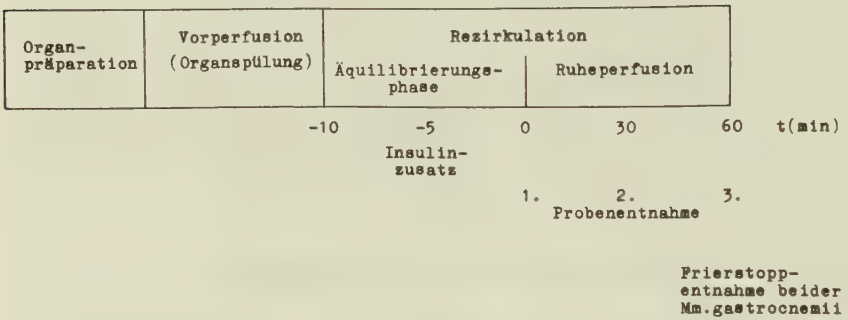
Bestandteile	Konzentrationen	Präparate und Art der Vorbereitung
KREBS-RINGER-Bicarbonat-Puffer, pH ~7.38 (KRB-Puffer)	mVal/l K^+ 5,94 Na^+ 143,52 Ca^{++} 5,08 Mg^{++} 2,10 Cl^- 130,70 $H_2PO_4^-$ 1,19 HCO_3^- 24,76	15-minütige Begasung mit CARBOGEN (95% O_2 / 5% CO_2)
Rindererythrocyten als Hämoglobinträger	10 g/100 ml Hb Hämatokrit ~28 %	1 - 2 Tage alte Rindererythrocyten: zweimal mit 0,9%iger NaCl-Lösung, zweimal mit KRB-Puffer gewaschen
Rinderserum-Albumin	4 g/100 ml	COHN Fraction V - PENTEX/MILES: in KRB-Puffer gelöst - zweimal 24 Std. gegen KRB-Puffer dialysiert
Heparin	5000 USPE/100 ml	LIQUEMIN 5000 - HOFFMANN-LA ROCHE
D-(+)-Glucose	11 mM	α-D-Glucose p.A. - SERVA 22700
Pyruvat-Na	0,15 mM	MERCK 6619
L-(+)-Lactat	0,7 - 1,5 mM	aus den Erythrocyten

Der pH-Wert des Mediums wurde nach Einfüllen in das System mit $NaHCO_3$ auf 7,35-7,45 eingestellt.
Bei den Versuchsgruppen, bei denen dem Perfusat Insulin zugegeben werden sollte, erfolgte fünf Minuten vor Perfusionsbeginn der Zusatz von 0,5 mU Insulin/ml Medium.

D) Perfusionsablauf

Der zeitliche Ablauf der isolierten Hinterkörperperfusion ist in Abbildung 1 dargestellt.
Abb. 1

Perfusionsablauf



E) Pharmaka

a) Synthetisches Glucocorticoid:
Betamethason (9α -Fluor-11β,17,21-trihydroxy-16β-methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion als Dinatriumphosphat)
Celestan^{R} solubile ; BYK-ESSEX , München

b) Diabetogenicum:
Streptozotocin (N-d-Glucosyl(2)-N'-nitrosomethyl-harnstoff)
Streptozotocin A grade ; Calbiochem GmbH , Gießen

100 mg Streptozotocin wurden in 2,5 ml Citrat-Puffer (28,1 Vol% 0,1 N HCl + 71,9 Vol% 0,1 M Na-Citrat;pH 4,5) aufgelöst und bis zur unmittelbaren Verwendung eisgekühlt aufbewahrt.Die Applikation erfolgte in einer Dosierung von 100 mg STR/kg Körpergewicht intraperitoneal von dorsal in den linken Oberbauch.

c) Insulin:
Actrapid^{R} 40 I.E./ml , Alt-Insulin , Monocomponent (MC)-Insulin aus Schweinepankreas , pH 7
NOVO INDUSTRIE GmbH , Pharmaceutika,Mainz
Das Insulin wurde am Tag der Perfusion mit 0,9%iger NaCl-Lösung im Verhältnis 1:400 verdünnt.
Es wurden 0,5 mU Insulin/ml dem Perfusionsmedium 5 Minuten vor Perfusionsbeginn zugesetzt.

d) Narkoticum:
Hexobarbital-Natrium (Natrium-Salz der Methyl-cyclohexenyl-methyl-barbitursäure)
Evipan^{R}-Natrium ; Bayer AG , Leverkusen

e) Anticoagulans:
Heparin als Natriumheparinat
Liquemin^{R} 25000 ; Hoffmann-La Roche AG , Grenzach-Wyhlen

F) Analysenmethodik

a) Glucose

Nach Deproteinisierung mit Perchlorsäure (0,5 ml Medium mit 5 ml 0,33 N $HClO_4$) erfolgte die Bestimmung der Glucose aus dem Überstand mit der Glucoseoxidase-Methode (GOD-Perid,TC 15756, Boehringer Mannheim GmbH) nach WERNER et al.(146).

b) Lactat

Enteiweißung mit Perchlorsäure (0,5 ml Medium mit 3 ml 0,6 N $HClO_4$).Analyse mit Lactatdehydrogenase nach GUTMANN & WAHLEFELD (61).

c) Pyruvat

Enteiweißung mit Perchlorsäure (1 ml Perfusat mit 1 ml 1 N $HClO_4$).Bestimmung des Pyruvats mit Lactatdehydrogenase (TC 15973, Boehringer Mannheim GmbH) nach CZOK & LAMPRECHT (33).

d) Alanin

Deproteinisierung mit Perchlorsäure (1 ml Perfusionsmedium mit 3 ml 0,6 N $HClO_4$) und Ermittlung der Alaninkonzentration mit Alanindehydrogenase nach WILLIAMSON (147).

e) Glutamat / Glutamin

Enteiweißung mit Perchlorsäure (2 ml Medium mit 2 ml 1 N $HClO_4$);anschließende Bestimmung mit Glutamatdehydrogenase und Glutaminase nach BERNT, BERGMEYER und LUND (13,86).

Für die Analyse der Muskelmetabolite Glucose,Lactat, Pyruvat,Glucose-6-phosphat,Fructose-6-phosphat,Citrat, Alanin,Creatinphosphat,Adenosin-5'-triphosphat,Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat wurde der rechte M.gastrocnemius im Frierstoppverfahren entnommen,homogenisiert,dann die Probe in 0,6 N Perchlorsäure aufgeschwemmt und zentrifugiert.Ein Aliquot des

sauren Überstandes wurde zur Bestimmung der freien Muskelglucose verwandt.Zur Analyse des Pyruvats wurde 1 ml saurer Extrakt mit 0,5 ml 0,7 M K_3PO_4 versetzt.Ein weiteres Teilvolumen des Überstandes wurde mit 2 N KOH auf pH 3,5 titriert und diente zur G-6-P- und F-6-P-Bestimmung.Für die Analyse von CP,ATP,ADP,AMP,Lactat,Citrat und Alanin wurde ein aliquoter Volumenanteil des Überstandes mit 2 N KOH neutralisiert.Nach erneuter Zentrifugation der auf pH 3,5 titrierten und der neutralisierten Aliquote konnten die gewonnenen Überstände zur Analyse eingesetzt werden. Glucose,Lactat,Pyruvat und Alanin wurden nach den o.a. Verfahren analysiert.

f) G-6-P / F-6-P

Bestimmung mit Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und Phosphoglucoseisomerase nach LANG & MICHAL (82).

g) Citrat

Analyse mit Lactatdehydrogenase,Malatdehydrogenase und Citratlyase nach DAGLEY (34).

h) CP / ATP

Analyse mit Hexokinase,Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und Creatinkinase nach LAMPRECHT & TRAUTSCHOLD (81).

i) ADP / AMP

Bestimmung mit Pyruvatkinase,Lactatdehydrogenase und Myokinase (TC 15980,Boehringer Mannheim GmbH) nach JAWOREK et al. (69).

Der linke M.gastrocnemius wurde ebenfalls im Frierstoppverfahren entnommen und für die Glykogenbestimmung verwandt.

j) Glykogen

Hydrolyse des Muskels mit 30%iger KOH,Äthanolfällung unter Zusatz von 0,3% (w/v) LiCl;Analyse mittels der Anthronmethode nach SEIFTER et al. (127).

k) Hämoglobin

Ermittlung der Hämoglobinkonzentration im Rinderblut für die Mixtur des Perfusionsmediums nach BETKE & SAVELSBERG (14).

l) Sauerstoffgehalt

Entnahme arterieller und venöser Blutproben aus dem Perfusionssystem, Messung mit dem Analysator Lex-O_2-Con, LEXINGTON INSTRUMENTS CORP., Waltham, Mass., USA.

m) pH / pO_2

Kontinuierliche Messung mit dem Acid-base digital analyzer PHM 72, RADIOMETER, Copenhagen.

n) Durchflußrate

Mittels eines graduierten Röhrchens und einer Stoppuhr wurde zu definierten Zeitpunkten der Ausstrom aus der V.cava inf. gemessen.

o) Diabetes-Kontrolle

α) Glucosekonzentration im Schwanzvenenblut

Quantitative Bestimmung mit DEXTROSTIX^R (ames-diagnostika; MILES GmbH, Sparte AMES, Frankfurt) in Verbindung mit dem EYETONE^R-Reflektometer (Fa. MILES, Frankfurt).

Die reflektionsphotometrische Messung mit dem EYETONE^R-Reflektometer erlaubt eine Ablesung der Blutglucosekonzentration in den Grenzen zwischen 10 mg/dl und 400 mg/dl. Bei Ausschlägen des Gerätes über die Anzeigegrenzen hinaus wurden die Grenzwerte für die Absolutwerte erachtet. Bei der großen Zahl der Blutzuckeranalysen, die zu Kontrollzwecken und für vergleichende Untersuchungen benötigt wurden, bot sich das DEXTROSTIX/EYETONE-System als eine schnelle, genaue und zuverlässige Alternative zu den üblichen Labormethoden

an (66,79).In der Literatur wurden bei Vergleichsmessungen mit der Hexokinase-Methode und der Blutglucosebestimmung mit dem Technicon Auto-Analyzer Korrelationen zwischen diesen Methoden und der DEXTROSTIX-EYETONE-Methode aufgestellt,bei denen die Korrelationskoeffizienten r=0,99 bzw. r=0,96 betrugen (98,138).
Das Verfahren war für die Tiere schonend,da jeweils nur ein Blutstropfen durch Punktion einer Schwanzvene gewonnen zu werden brauchte.

8) Glucose und Ketonkörper im Harn

Verwendung des Keto-Diabur-Testes^{R} (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim),einer Teststreifen-Methode zur halbquantitativen Bestimmung von Glucose und zum Nachweis von Ketonkörpern (Aceton und Acetessigsäure) im Harn.

G) Auswertung und Statistik

Zur Analyse der Substratkonzentrationen im Perfusionsmedium wurden bei 0',30' und 60' jeweils 7 ml Perfusat entnommen.Die Ermittlung der zu den angegebenen Zeitpunkten der Probenentnahme aktuell vorhandenen Substratmenge erlaubte,durch Differenzbildung die Veränderungen in der Substratutilisation durch die Muskulatur zu ermitteln.Diese Differenzen wurden zu 30'- und 60'-Kumulativen addiert und anschließend die Werte auf 30 g Muskulatur bezogen (116).
Signifikanzen wurden mit dem t-Test nach STUDENT geprüft,als Signifikanzkriterium für das zweiseitige Testverfahren $p \leq 0,05$ gewählt.
Die in den Tabellen enthaltenen Werte sind jeweils von oben nach unten: Mittelwert ($\bar{x}$,unterstrichen), Standardabweichung (S.E.),Standardabweichung des Mittelwertes (S.E.M.).
Soweit nicht anders vermerkt,gilt für die in den Tabellen angegebenen Werte der Substrate im Medium die Einheit µmol/30 g Muskulatur und für die Muskelmetabolite µmol/g Muskel-Feuchtgewicht (FG) bzw. µmol/g Muskel-Trockengewicht (TG).
In den Abbildungen ist immer der Mittelwert ± S.E.M. dargestellt.
In der Ergebnisbeschreibung sind die Signifikanzen für die Metabolite im Medium für die 60'-Kumulative angegeben,bei den Muskelmetaboliten für die Feuchtgewicht-Werte.

Ergebnisse

in vivo - Untersuchungen

A) Gewichtsverhalten der adrenalektomiert-diabetischen Ratten

Die Versuche wurden mit adrenalektomiert-diabetischen Tieren durchgeführt,die keinerlei Nahrungsrestriktion unterlagen,sowie mit Tieren,denen 24 Stunden vor der Perfusion das Futter entzogen wurde.
Das Gewichtsverhalten der Versuchstiere während des Beobachtungszeitraumes von sechs Tagen (Tag 0: bilaterale Adrenalektomie und Diabetes-Induktion bis Tag 6: Perfusion) zeigte folgenden Verlauf:
innerhalb von 24 Stunden nach der Operation verloren die Ratten (n=76) im Mittel 11,3 g an Gewicht,das sind rund zwei Drittel des Gewichtsverlustes,den die Tiere in den ersten fünf Tagen erlitten.Bis zum fünften Tag p.o. nahm das Körpergewicht kontinuierlich ab,um bis zum sechsten Tag bei uneingeschränkter Nahrungsaufnahme wieder um $\bar{x}$=4,6 g (n=27) zuzunehmen;wohingegen 24-stündige Nahrungskarenz vom fünften zum sechsten Tag einen Gewichtssturz von $\bar{x}$=13,6 g (n=49) bewirkte.
Die Gewichte der für die Perfusionsversuche verwandten Ratten lagen am Tag der Perfusion für die gefütterten Tiere im Bereich von 173,6 g bis 205,5 g,für die gehungerten Tiere variierten sie von 170,7 g bis 191,7 g.

B) Charakterisierung des Streptozotocin-Diabetes

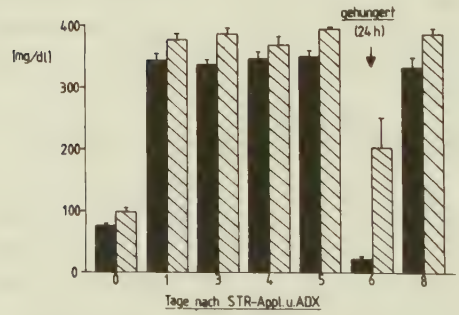
Zur Kontrolle der diabetischen Stoffwechsellage wurde neben der Blutglucosebestimmung noch die Bestimmung der Glucose- und Ketonkörper-Ausscheidung im Harn durchgeführt.Dabei zeigte sich,daß die applizierte Streptozotocin-Dosis (100 mg STR/kg Körpergewicht i.p.) einen Diabetes mellitus mittleren Schweregrades erzeugte,der mit einer recht beträchtlichen Glucose-Ausscheidung im Urin einherging,aber zu keiner Zeit eine

Ketonurie erkennen ließ.
Die adrenalektomiert-diabetischen Ratten wiesen im gefütterten Zustand durchweg einen etwas niedrigeren Blutzuckerspiegel als die diabetischen Tiere auf, schieden aber gleiche Mengen Glucose aus und waren ebenfalls nicht ketonurisch.
Auffallend bei den adrenalektomiert-diabetischen Tieren ist der drastische Abfall der Blutglucosekonzentration nach einer 24-stündigen Hungerperiode auf deutlich hypoglykämische Werte. Dieser Effekt ist eindeutig auf die Adrenalektomie zurückzuführen, weisen die diabetischen Ratten doch einen hyperglykämischen Nüchternblutzuckerwert auf.
Der schlechte Allgemeinzustand, den die adrenalektomiert-diabetischen Ratten nach 24-stündigem Fasten erkennen ließen, erklärt sich aus dem starken Gewichtsabfall verbunden mit dem Abgleiten in die Hypoglykämie.

Abb. 2

Glucosekonzentration im Schwanzvenenblut

ADX-DIAB ■ (n=7) DIAB ▧ (n=6)



Die Abbildungen 3 und 4 vergleichen die an adrenalektomiert-diabetischen Ratten erhobenen Befunde mit denen von Normaltieren und adrenalektomierten Tieren.

Abb. 3

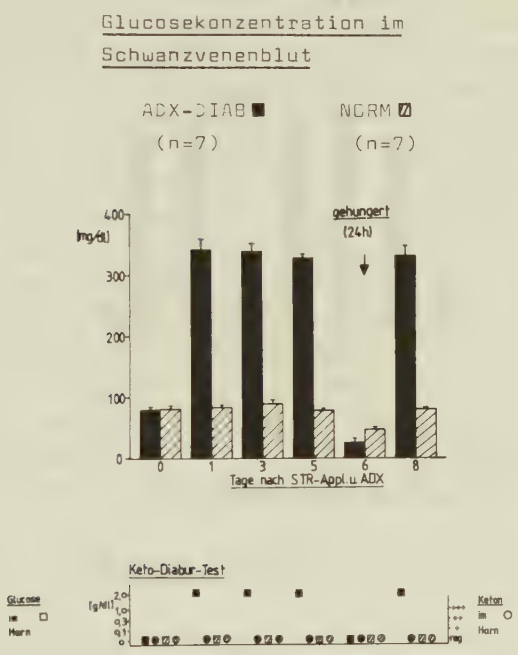
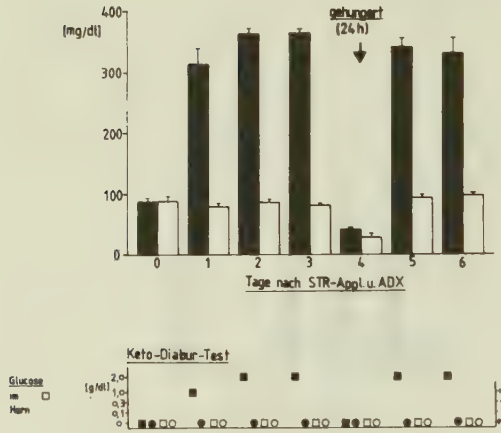


Abb. 4

Glucosekonzentration im Schwanzvenenblut

ADX-DIAB ■ (n=10) ADX □ (n=8)



C) Einfluß von Betamethason auf den Blutzuckerspiegel adrenalektomiert-diabetischer Ratten

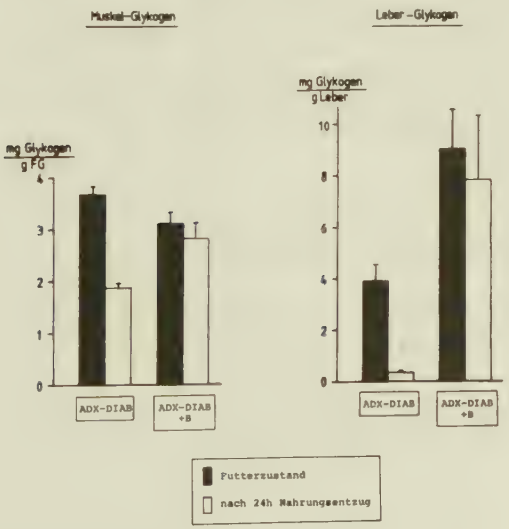
Betamethason bewirkt innerhalb eines Zeitraumes von 3,5 Stunden eine signifikante Steigerung des Blutzuckerspiegels adrenalektomiert-diabetischer Ratten. Bei gefütterten Tieren (n=15) steigt der Blutglucosegehalt nach einer einmaligen Betamethasonapplikation (5 mg/kg Körpergewicht i.p.) von 329 ± 25(S.E.) mg/dl auf 359 ± 31 mg/dl ($p < 0,005$). Gehungerte Tiere (n=17) zeigen einen Anstieg von 20 ± 16 mg/dl auf 45 ± 32 mg/dl ($p < 0,005$).

D) Leber- und Muskelglykogen

Der Leberglykogengehalt adrenalektomiert-diabetischer Ratten lag im gefütterten Zustand der Tiere bei $\bar{x}$=3,9 mg/g Leber, nach 24-stündigem Fasten erfuhr er einen signifikanten Abfall ($p < 0,001$) auf $\bar{x}$=0,35 mg/g Leber. Eine Betamethasongabe 3,5 Stunden vor der Gewebeentnahme steigerte den Leberglykogengehalt auf $\bar{x}$=9,0 mg/g bei den gefütterten und auf $\bar{x}$=7,8 mg/g bei den gehungerten Versuchstieren.Der Unterschied zu den unbehandelten Tieren ist in beiden Fällen statistisch signifikant (gef.:$p < 0,02$; geh.:$p < 0,02$).

Der Muskelglykogengehalt zeigte ebenfalls eine signifikante Differenz bei Ratten im Futterzustand sowie nach 24-stündigem Hungern ($p < 0,001$).Die Absolutwerte betrugen $\bar{x}$=3,7 mg/g Feuchtgewicht für die gefütterten und $\bar{x}$=1,9 mg/g Feuchtgewicht für die gehungerten Tiere. 3,5 Stunden nach Betamethasongabe war der Glykogengehalt des M.gastrocnemius der gehungerten Tiere signifikant ($p < 0,02$) auf $\bar{x}$=2,8 mg/g FG angestiegen,während die gefütterten Ratten einen statistisch nicht gesicherten Abfall des Muskelglykogens auf $\bar{x}$=3,1 mg/g FG aufwiesen.

Abb. 5 MUSKEL-UND LEBERGLYKOGEN ADRENALEKTOMIERT-DIABETISCHER RATTEN VOR UND NACH 3,5 h BETAMETHASONVORBEHANDLUNG IM FUTTERZUSTAND SOWIE NACH 24 h NAHRUNGSENTZUG.



Für jede Versuchsgruppe: n=5

Perfusionsexperimente

A) Angaben zum Hinterkörperpräparat

Die Zusammensetzung des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten ist in Tabelle 3 angegeben.
Der Wassergehalt der Muskulatur adrenalektomiert-diabetischer Ratten betrug in vivo $\bar{x}$=76,09 % (n=5),nach 60-minütiger Perfusion $\bar{x}$=76,79 % (n=20).Für die 24 Stunden gehungerten Tiere ergaben sich folgende Werte für die Wassergehalte des Muskelgewebes: in vivo: $\bar{x}$=77,28 % (n=5),nach 60-minütiger Perfusion $\bar{x}$=76,57 % (n=20).

Tab. 3 Zusammensetzung des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten

Analyse am 6.Tag nach bilateraler Adrenalektomie und Streptozotocin-Applikation

	Hinterkörper		Muskelmasse		Haut und Fettgewebe		Knochen		Relation: Muskelmasse des Hinterkörpers/ Körpermasse	Körpermasse,bei der 30g Muskelmasse perfundiert werden
	g	%	g	%	g	%	g	%		
im Futterzustand	42,5	100	30,4	71,6	7,2	16,9	4,9	11,5	1/6	180 g
nach 24 h Nahrungsentzug	50,2	100	35,1	69,9	9,0	17,9	6,1	12,2	1/5	160 g

Werte als Mittelwerte von jeweils fünf untersuchten Tieren

B) Kontrollkriterien für die Perfusion

Der arterielle pH-Wert (Tab.4 a,b) nahm im Verlauf der Perfusion kontinuierlich ab,was mit der Lactatproduktion durch die Muskulatur zu erklären ist.
Die Abnahme des arteriellen Sauerstoff-Partialdruckes (Tab.4 a,b) wurde verursacht durch eine Teiläquilibrierung

des Carbogens mit der Raumluft beim Öffnen des Systems zur Probenentnahme.
Die Durchflußraten (Tab.4 a,b) wiesen während des 60-minütigen Perfusionsablaufes relative Konstanz auf;ein mittlerer Fluß von 13-14 ml/min·30 g Muskulatur versorgte das Präparat hinlänglich mit Sauerstoff,was man auch daran erkennen konnte,daß die Hinterpfoten der Ratten stets eine rosige Farbe hatten.

Tab. 4 Perfusionsparameter

a)

Versuchsgruppe	Zeit (min)	pH (arteriell)	pO_2 (arteriell) (= Hg)	Durchflußraten (ml/min·30g Musk.)	Trockengewicht (%)
ADX-DIAB gefüttert	0	7,316	501,12	16,55	
		0,020	34,09	3,45	
		0,009	24,19	1,58	
	30	7,304	408,04	13,35	
		0,033	41,50	2,70	
		0,015	18,56	1,21	
	60	7,247	329,08	14,78	23,59
		0,047	102,27	2,62	2,00
		0,021	45,74	1,17	0,894
ADX-DIAB gehungert	0	7,336	483,64	14,54	
		0,017	78,28	1,80	
		0,008	35,44	0,805	
	30	7,304	453,60	14,41	
		0,038	68,67	2,07	
		0,017	21,77	0,928	
	60	7,263	398,20	14,07	24,33
		0,031	87,57	1,66	2,24
		0,014	39,14	0,742	1,00
ADX-DIAB+B gefüttert	0	7,325	555,78	12,40	
		0,025	56,67	1,01	
		0,011	25,34	0,451	
	30	7,332	440,62	12,92	
		0,048	62,40	0,908	
		0,022	18,96	0,138	
	60	7,301	416,04	12,04	23,23
		0,043	57,14	0,995	1,45
		0,019	25,55	0,445	0,649
ADX-DIAB+B gehungert	0	7,351	486,16	14,34	
		0,036	106,12	1,81	
		0,016	47,46	0,808	
	30	7,336	420,80	13,80	
		0,046	106,99	2,29	
		0,020	47,85	1,05	
	60	7,282	379,06	13,42	23,67
		0,040	72,75	2,18	0,678
		0,018	32,54	0,973	0,303

b)

Versuchsgruppe	Zeit (min)	pH (arteriell)	pO_2 (arteriell) (= Hg)	Durchflußraten (ml/min·30g Musk.)	Trockengewicht (%)
ADX-DIAB+I gefüttert	0	7,323	458,46	14,01	
		0,036	24,44	1,60	
		0,016	10,93	0,715	
	30	7,284	342,90	14,37	
		0,032	78,72	1,04	
		0,014	35,20	0,465	
	60	7,247	312,86	13,45	22,22
		0,032	71,67	1,04	2,10
		0,014	32,05	0,465	0,939
ADX-DIAB+I gehungert	0	7,307	456,14	12,03	
		0,021	71,48	1,79	
		0,009	31,96	0,800	
	30	7,285	365,86	13,09	
		0,024	60,12	1,44	
		0,011	26,89	0,642	
	60	7,267	330,62	12,10	22,12
		0,022	51,90	1,56	2,47
		0,010	23,21	0,698	1,11
ADX-DIAB+B+I gefüttert	0	7,325	538,26	14,09	
		0,036	42,38	0,548	
		0,016	18,95	0,245	
	30	7,294	423,22	14,46	
		0,034	95,86	0,738	
		0,015	42,87	0,330	
	60	7,260	386,52	14,31	23,78
		0,043	96,59	0,600	0,470
		0,019	43,20	0,268	0,210
ADX-DIAB+B+I gehungert	0	7,363	528,08	13,07	
		0,035	38,70	1,66	
		0,015	17,31	0,742	
	30	7,340	418,82	13,35	
		0,020	63,95	1,34	
		0,009	28,60	0,601	
	60	7,290	384,44	12,99	23,61
		0,035	68,05	1,10	0,749
		0,015	30,43	0,493	0,335

pro Versuchsgruppe: n=5

Die Konzentrationen von Creatinphosphat sowie der Adeninnucleotide ATP,ADP und AMP im M.gastrocnemius nach 60-minütiger Perfusion (Tab.5) stimmen gut überein mit den Werten,die in vivo und nach 60-minütiger Perfusion an normalen und adrenalektomierten Ratten ermittelt wurden (80);sie liegen größenordnungsmäßig in dem Bereich,der auch in der Literatur angegeben wird (10,11,12,58,62,71, 109,116).

Tab. 5 CP-,ATP-,ADP-,AMP-Gehalt des M.gastrocnemius

n=5 in jeder Versuchsgruppe

	ADX-DIAB		ADX-DIAB +B		ADX-DIAB +I		ADX-DIAB +B+I	
	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert
	19,86	22,03	20,26	19,64	18,74	21,20	20,92	21,22
PG	3,41	2,12	2,46	2,95	2,18	1,83	1,37	0,766
	1,53	0,947	1,10	1,32	0,976	0,820	0,613	0,343
CP								
	88,31	90,92	87,26	82,95	84,24	96,99	88,01	89,96
TG	3,89	9,55	9,38	11,96	3,64	15,19	6,85	4,77
	1,74	4,27	4,19	5,35	1,63	6,79	3,06	2,13
	7,17	7,97	8,07	7,85	7,39	7,66	7,79	7,78
PG	1,25	0,552	2,29	0,626	0,804	0,477	0,994	1,20
	0,559	0,247	1,02	0,280	0,360	0,214	0,444	0,535
ATP								
	31,33	32,83	34,95	33,16	33,61	34,90	32,83	32,96
TG	2,37	1,91	9,98	2,40	5,70	3,42	4,65	5,04
	1,06	0,856	4,46	1,07	2,55	1,53	2,08	2,25
	0,811	0,836	0,731	0,885	0,830	0,770	0,781	0,807
PG	0,137	0,062	0,084	0,060	0,150	0,029	0,096	0,158
	0,061	0,028	0,037	0,027	0,067	0,013	0,043	0,071
ADP								
	3,55	3,45	3,16	3,74	3,79	3,53	3,29	3,43
TG	0,354	0,254	0,435	0,181	0,959	0,490	0,408	0,731
	0,158	0,114	0,195	0,081	0,429	0,219	0,183	0,327
	0,028	0,029	0,025	0,037	0,028	0,027	0,034	0,032
PG	0,010	0,012	0,002	0,004	0,006	0,006	0,007	0,011
	0,004	0,005	0,001	0,002	0,003	0,002	0,003	0,005
AMP								
	0,116	0,122	0,106	0,157	0,130	0,126	0,143	0,176
TG	0,032	0,052	0,013	0,019	0,036	0,031	0,031	0,047
	0,014	0,023	0,006	0,009	0,016	0,014	0,014	0,021

Der Sauerstoffverbrauch durch die Muskulatur (Tab.6) lag in dem Bereich, wie er auch für Normaltiere und adrenalektomierte Ratten gemessen wurde (80).

Tab. 6 Sauerstoffverbrauch durch die Muskulatur

	Perfusionsdauer (min)			
	0 - 30	30 - 60	0 - 30	30 - 60
	[µmol / min·30g Musk.]		[µmol / min·g Musk.]	
ADX-DIAB gefüttert	16,88 1,96 0,877	13,93 2,35 1,05	0,563 0,065 0,029	0,464 0,078 0,035
ADX-DIAB gehungert	13,53 1,90 0,850	13,61 1,91 0,855	0,451 0,063 0,028	0,454 0,064 0,028
ADX-DIAB+B gefüttert	13,82 1,42 0,633	13,70 0,726 0,325	0,461 0,047 0,021	0,457 0,024 0,011
ADX-DIAB+B gehungert	12,55 2,20 0,983	12,57 1,23 0,551	0,418 0,073 0,033	0,419 0,041 0,018
ADX-DIAB+I gefüttert	19,03 2,69 1,20	17,56 3,09 1,38	0,634 0,090 0,040	0,585 0,103 0,046
ADX-DIAB+I gehungert	15,02 2,61 1,17	14,94 2,45 1,10	0,501 0,087 0,039	0,498 0,081 0,036
ADX-DIAB+B+I gefüttert	17,71 5,25 2,35	19,33 4,83 2,16	0,590 0,175 0,078	0,644 0,161 0,072
ADX-DIAB+B+I gehungert	15,45 2,41 1,08	17,85 1,10 0,490	0,515 0,080 0,036	0,595 0,036 0,016

für jede Versuchsgruppe gilt: n=5

C) Glucose

Die Skelettmuskulatur gefütterter adrenalektomiert-diabetischer Ratten nimmt während 60-minütiger Perfusion 341,95 µmol Glucose/30 g Muskulatur auf. Bei den Tieren, die 24 Stunden vor der Perfusion gehungert haben, ist die Glucoseaufnahmerate geringer, jedoch statistisch nicht signifikant. Eine Vorbehandlung der Tiere mit Betamethason 3,5 Stunden vor der Perfusion verringert die Aufnahmerate von Glucose durch die Muskulatur sowohl im gefütterten als auch im gehungerten Zustand gegenüber den unbehandelten Kontrollen signifikant (gef.: $p < 0{,}001$; geh.: $p < 0{,}005$).
Insulinzusatz zum Perfusionsmedium bewirkt eine statistisch signifikante Steigerung der Glucoseaufnahmerate (ADX-DIAB+I/ADX-DIAB: gef.: $p < 0{,}01$; geh.: $p < 0{,}001$).
Bei kombinierter Glucocorticoid-Insulin-Gabe hat Betamethason keinen Einfluß auf die durch Insulin herbeigeführte Glucoseaufnahme-Steigerung. (Tab.7, Abb.6a,b)

Abb. 6 Glucoseaufnahme des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

a) ohne Insulin

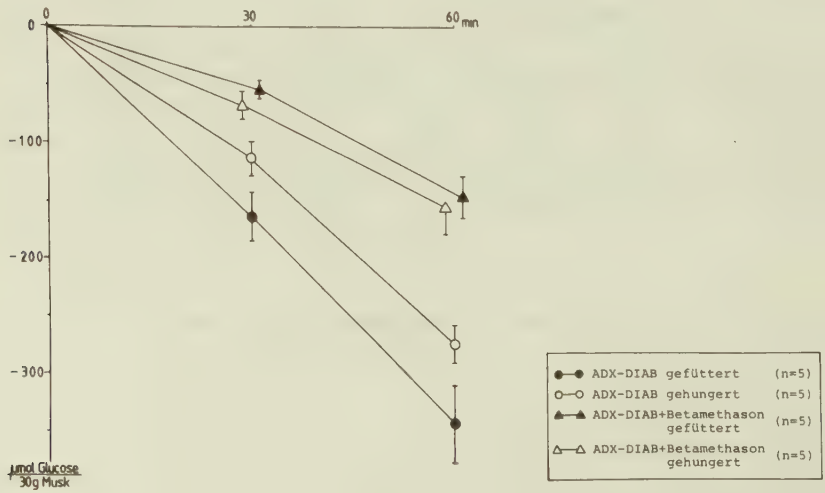
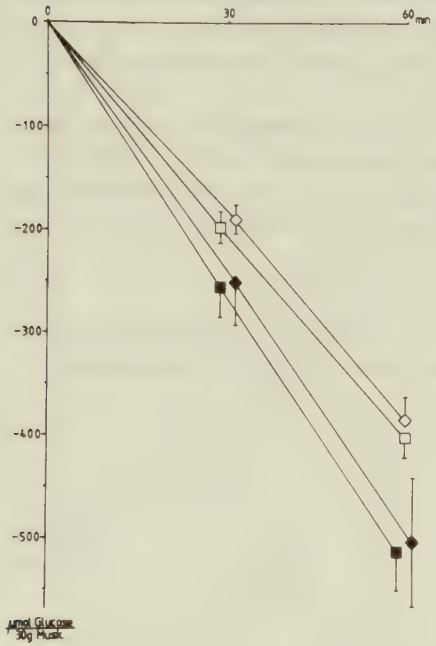
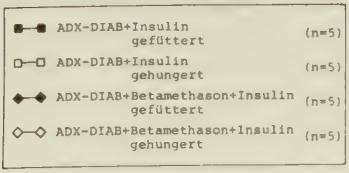


Abb. 6 Glucoseaufnahme des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

b) mit Insulin





D) Lactat

Die Lactatproduktion wird im gefütterten Zustand der Tiere durch Betamethason gegenüber den adrenalektomiert-diabetischen Kontrollen signifikant ($p < 0,01$) reduziert und durch Insulin signifikant ($p < 0,02$) gesteigert. Ebenso wird durch kombinierte Gabe von Betamethason und Insulin die Lactatfreisetzung signifikant erhöht (ADX-DIAB+B+I gef./ ADX-DIAB gef.: $p < 0,02$).
In den Perfusionen mit 24 Stunden gefasteten Ratten zeigen sich in den mit Hormon behandelten Reihen keine statistisch signifikanten Unterschiede der Lactatproduktionsraten gegenüber den unbehandelten Kontrollen. (Tab.7, Abb.7a,b)

Abb. 7 Lactatproduktion des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

a) ohne Insulin

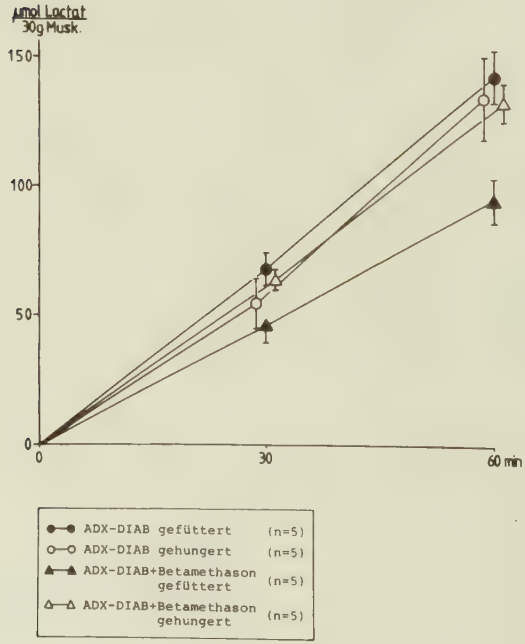
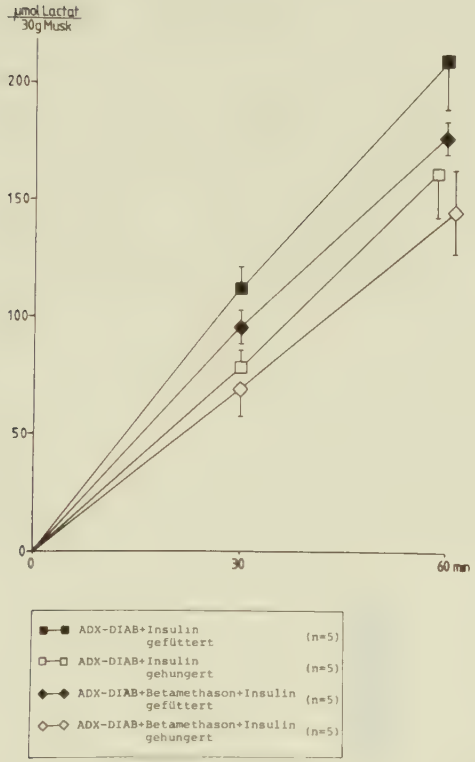


Abb. 7 Lactatproduktion des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

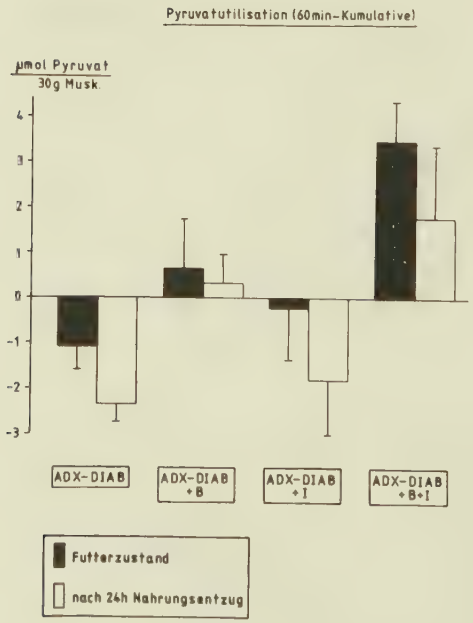
b) mit Insulin



E) Pyruvat

Die Pyruvatutilisation durch die Skelettmuskulatur adrenalektomiert-diabetischer Ratten zeigt folgende Charakteristika:
im nicht substituierten Zustand wird im Verlaufe der einstündigen Perfusion Pyruvat aus dem Medium extrahiert,und zwar nehmen die Hungertiere ca. doppelt soviel auf wie die gefütterten.Auch bei Zusatz von Insulin zum Perfusionsmedium nimmt der Muskel Pyruvat auf;wiederum im Futterzustand weniger als nach 24 Stunden Hunger.
Betamethasonvorbehandlung hat eine Abgabe von Pyruvat an das Medium zur Folge.Durch Zugabe von Insulin zum Perfusionsmedium und gleichzeitige Betamethasonapplikation wird die Pyruvatabgabe aus der Muskulatur noch gesteigert.
(Tab.7,Abb.8)

Abb. 8



n=5 pro Versuchsgruppe

F) Lactat-Pyruvat-Quotienten

Die Lactat-Pyruvat-Quotienten im Perfusionsmedium zeigen einen kontinuierlichen Anstieg während der Perfusion, der nach Betamethasonvorbehandlung signifikant verringert ist (60', ADX-DIAB+B/ADX-DIAB: gef.: $p < 0,05$, geh.: $p < 0,01$). (Tab.9, Abb.9a,b)

Abb. 9a
ohne Insulin

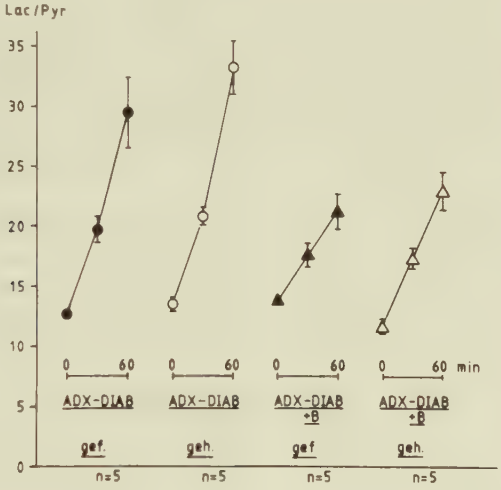
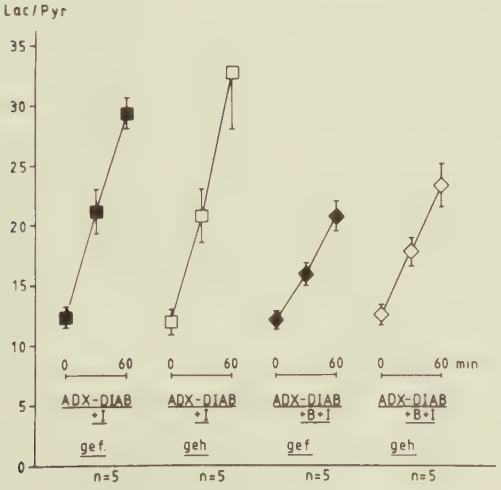


Abb. 9b
mit Insulin



G) Alanin

Die Alaninfreisetzungsrate beträgt bei den adrenalektomiert-diabetischen Ratten während 60-minütiger Perfusion im gefütterten Zustand 17,23 µmol/30 g Muskulatur, im gehungerten Zustand 14,84 µmol/30 g Muskulatur.
Vorbehandlung mit Betamethason läßt in beiden Fällen die Produktion von Alanin durch die Skelettmuskulatur signifikant (gef.: $p < 0{,}005$; geh.: $p < 0{,}001$) ansteigen.
Insulinzusatz zum Perfusionsmedium reduziert die Alaninproduktionsrate nur im gefütterten Zustand der Tiere signifikant ($p < 0{,}05$); in den Perfusionen mit gehungerten Ratten ergibt sich gegenüber den Kontrollen keine signifikante Veränderung.
Doppelte Substitution mit Betamethason und Insulin erhöht die Freisetzungsrate von Alanin bei den gefütterten Tieren signifikant ($p < 0{,}01$) gegenüber der adrenalektomiert-diabetischen Kontrollgruppe und deutlich, aber nicht statistisch signifikant bei den Hungertieren. (Tab.8, Abb.10a,b)

Abb. 10 Alaninproduktion des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

a) ohne Insulin

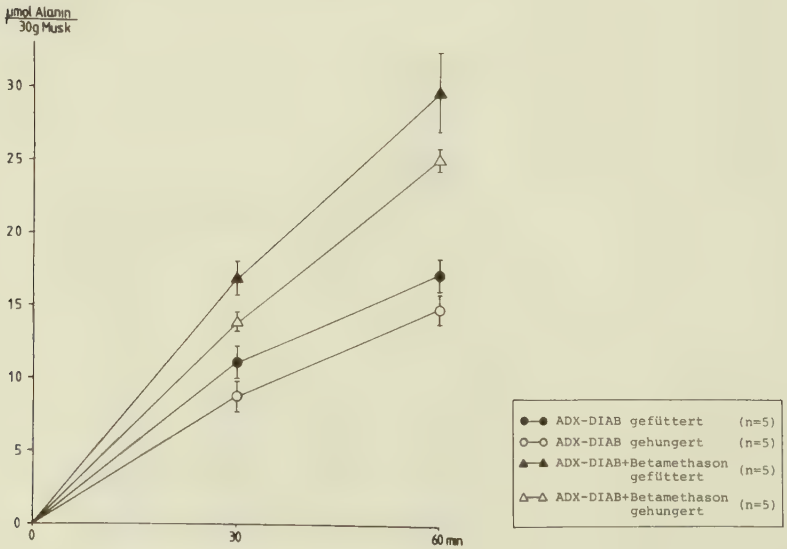
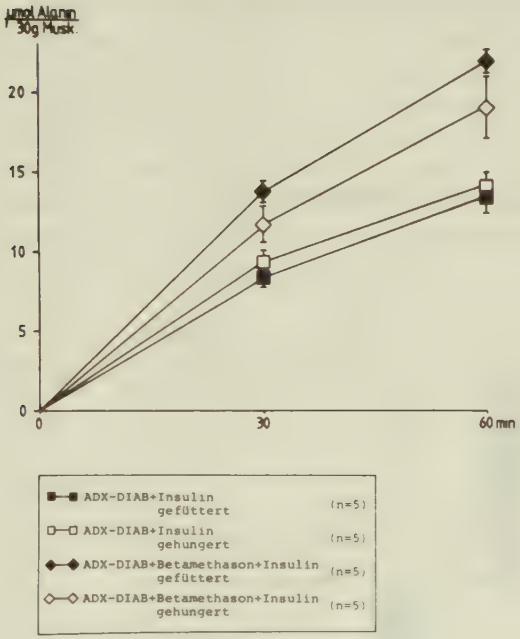


Abb. 10 Alaninproduktion des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

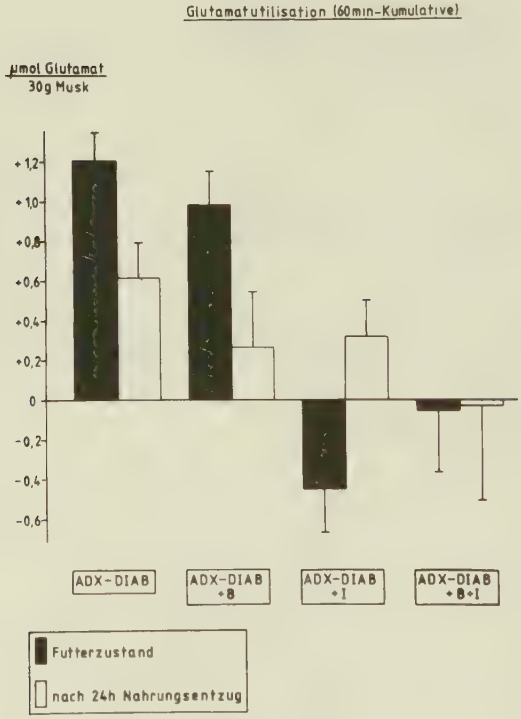
b) mit Insulin



H) Glutamat

Die Glutamatutilisation des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während einstündiger Perfusion zeigt Abb.11. Siehe auch Tab.8.

Abb. 11



I) Glutamin

Die adrenalektomiert-diabetischen Ratten setzen während einstündiger Hinterkörperperfusion sowohl im Futterzustand als auch nach vorheriger 24-stündiger Hungerperiode fast identische Mengen an Glutamin aus der Skelettmuskulatur frei. 3,5 Stunden nach Betamethasonapplikation steigt die Glutaminfreisetzungsrate in der gefütterten und der gehungerten Versuchsgruppe signifikant (gef.:$p < 0,02$;geh.:$p < 0,02$) an. Während nach Insulinzusatz zum Medium keine signifikanten Abweichungen von den Kontrollwerten auftreten,wird durch Betamethason und Insulin die Glutaminproduktion signifikant (gef.:$p < 0,01$;geh.:$p < 0,05$) gesteigert. (Tab.8,Abb.12a,b)

Abb. 12 Glutaminproduktion des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

a) ohne Insulin

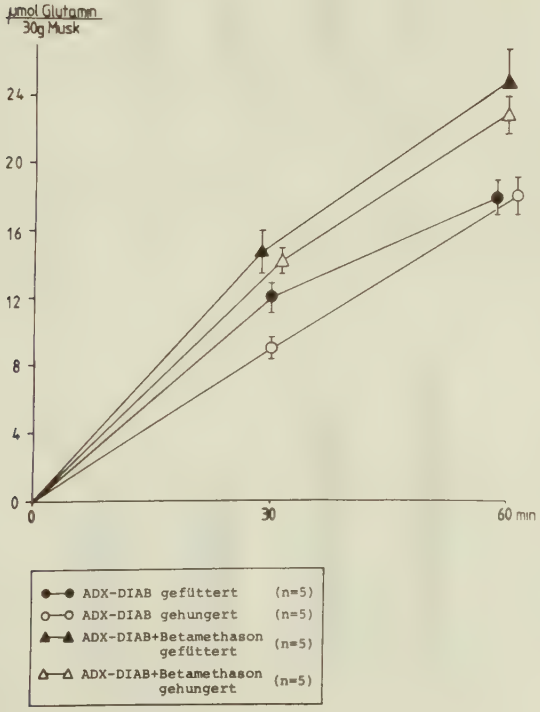
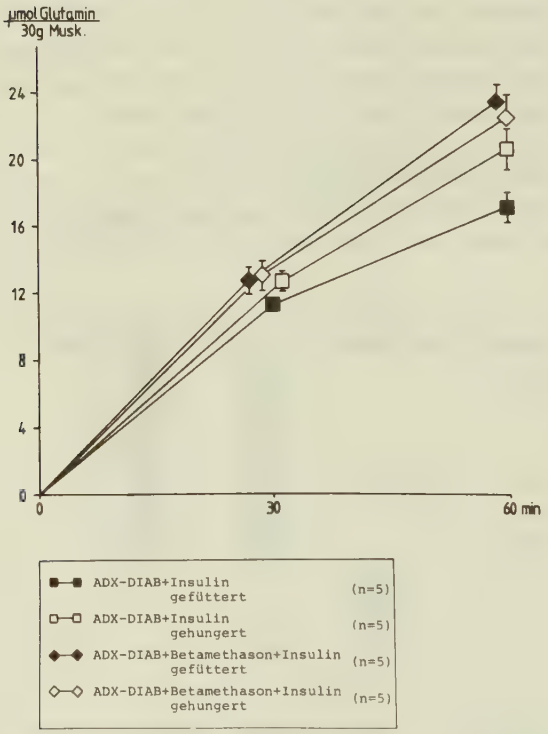


Abb. 12 Glutaminproduktion des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion

b) mit Insulin

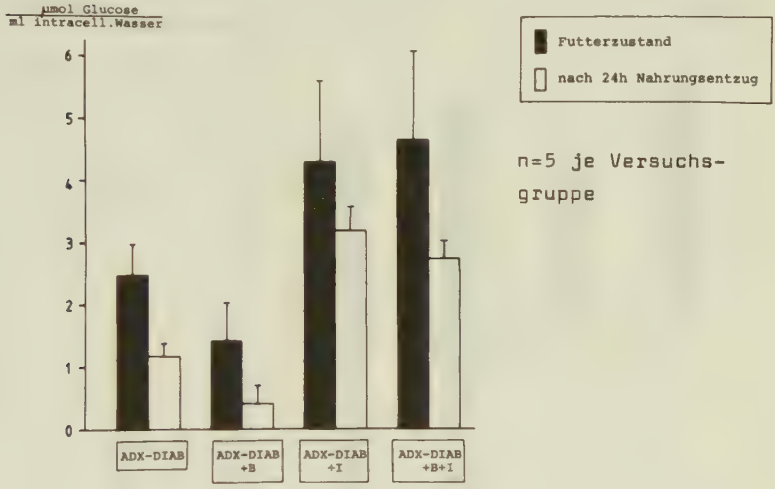


J) Muskelmetabolite

a) Glucose

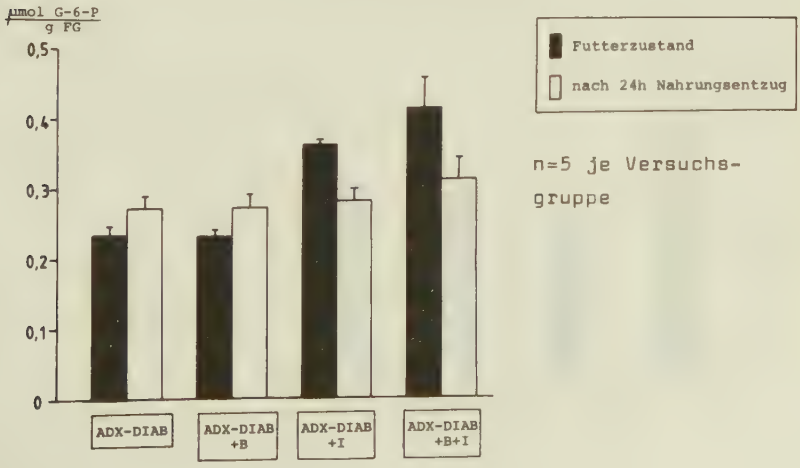
Die Konzentration der freien Glucose im M.gastrocnemius spiegelt in der Tendenz die Veränderungen der Glucoseaufnahmeraten aus dem Perfusat wider. (Tab.10,Abb.13)

Abb. 13 Glucosegehalt des M.gastrocnemius



b) Glucose-6-phosphat

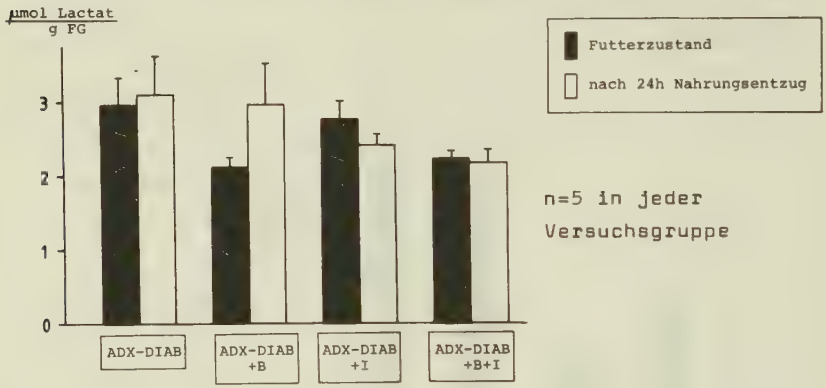
Abb. 14 G-6-P-Gehalt des M.gastrocnemius



c) Lactat

Die im M.gastrocnemius nach 60-minütiger Perfusion vorhandene Lactatkonzentration wird weder durch den Fütterungszustand der Tiere noch durch Hormongaben signifikant verändert. (Tab.11,Abb.15)

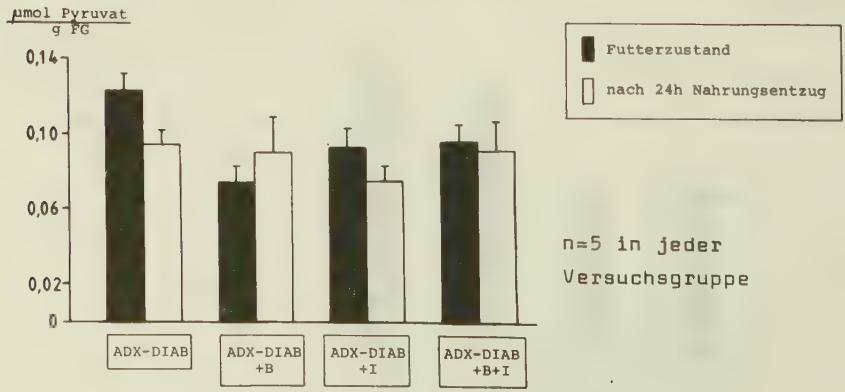
Abb. 15 Lactatgehalt des M.gastrocnemius



d) Pyruvat

Die Pyruvatkonzentration des M.gastrocnemius weist in allen Versuchsgruppen relative Konstanz auf. (Tab.11,Abb.16)

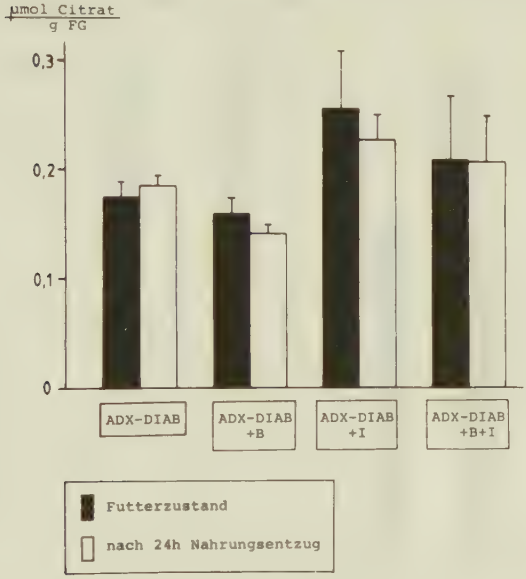
Abb. 16 Pyruvatgehalt des M.gastrocnemius



e) Citrat

Die Citratkonzentration im M.gastrocnemius zeigt nach einmaliger Betamethasongabe einen Abfall gegenüber den unbehandelten adrenalektomiert-diabetischen Kontrollen.Bei den 24 Stunden gehungerten Ratten ist dieser Unterschied signifikant ($p < 0,01$).
Insulinzusatz zum Perfusat erhöht den Citratgehalt auf Werte über 200 nmol/g FG.Die Kombination beider Hormone bewirkt einen geringfügigen Abfall gegenüber den Insulinwerten. (Tab.11,Abb.17)

Abb. 17 Citratgehalt des M.gastrocnemius

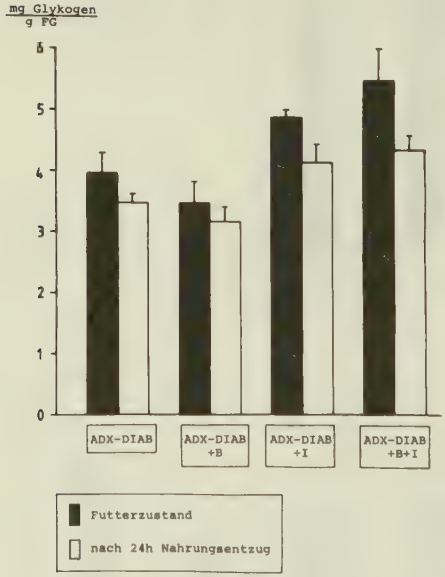


jede Versuchsgruppe: n=5

f) Glykogen

Der Glykogengehalt der Muskulatur liegt nach Abschluß der Perfusion sowohl bei den gefütterten als auch bei den gehungerten Tieren ungefähr auf der Höhe des in vivo-Wertes gefütterter adrenalektomiert-diabetischer Ratten.
Im Futterzustand sinkt die Glykogenkonzentration nach Betamethasonvorbehandlung geringfügig ab.Nach Insulinzusatz ist sie signifikant ($p \leq 0,05$) erhöht.Beide Hormone zusammen ergeben ebenfalls einen signifikanten ($p \leq 0,05$) Zuwachs an Muskel-Glykogen.
Bei den Perfusionen mit 24 Stunden gehungerten Ratten ergeben sich analoge Veränderungen des Glykogengehaltes, die sich jedoch auf einem etwas niedrigeren Niveau abspielen. (Tab.10,Abb.18)

Abb. 18 Glykogengehalt des M.gastrocnemius

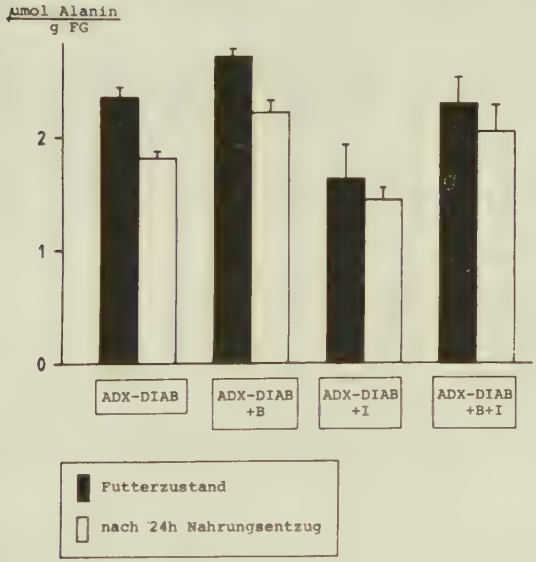


n=5 je Versuchsgruppe

g) Alanin

Der Alaningehalt des Muskels korreliert positiv mit den im Medium vorhandenen Alaninkonzentrationen,d.h.,nach Betamethason finden sich höhere Konzentrationen als in den Kontrollen,nach Insulin niedrigere;beide Hormone zusammen ergeben wieder einen höheren Alaningehalt im M.gastrocnemius. (Tab.10,Abb.19)

Abb. 19 Alaningehalt des M.gastrocnemius



pro Versuchsgruppe n=5

A n h a n g

Tab. 7 Glucoseaufnahme, Pyruvatutilisation und Lactatproduktion durch die Muskulatur

		ADX-DIAB		ADX-DIAB +B		ADX-DIAB +I		ADX-DIAB +B+I	
		gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert
Glucose	30'	-163,25	-113,09	- 53,58	- 67,35	-256,85	-197,93	-251,66	-190,23
		46,82	32,81	18,45	27,51	64,11	34,70	93,05	31,98
		20,94	14,67	8,25	12,30	28,67	15,52	41,62	14,30
	60'	-341,95	-273,32	-145,79	-154,52	-515,13	-403,45	-505,42	-386,26
		75,19	36,33	40,04	52,40	84,13	43,63	140,23	50,18
		33,62	16,25	17,91	23,44	37,62	19,51	62,71	22,44
Pyruvat	30'	- 0,149	- 1,45	0,103	- 0,140	- 0,124	- 0,888	2,96	0,796
		0,875	0,457	0,314	0,576	1,60	3,26	1,37	2,14
		0,391	0,204	0,141	0,258	0,714	1,46	0,614	0,957
	60'	- 1,08	- 2,35	0,654	0,337	- 0,217	- 1,78	3,49	1,78
		1,13	0,862	2,46	1,41	2,54	2,71	1,96	3,60
		0,504	0,385	1,10	0,628	1,14	1,21	0,877	1,61
Lactat	30'	67,98	54,53	46,05	63,79	112,60	78,48	95,95	69,54
		13,97	21,32	14,36	8,94	20,95	17,12	16,12	26,62
		6,25	9,53	6,42	4,00	9,37	7,65	7,21	11,90
	60'	142,03	133,49	93,94	131,85	210,10	162,08	177,43	145,59
		22,39	35,71	19,09	16,18	45,74	42,23	15,58	40,20
		10,01	15,97	8,54	7,24	20,46	18,89	6,97	17,98

Tab. 8 Alanin-, Glutaminproduktion und Glutamatutilisation durch die Muskulatur

		ADX-DIAB		ADX-DIAB +B		ADX-DIAB +I		ADX-DIAB +B+I	
		gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert
Alanin	30'	11,14	8,80	16,97	13,95	8,38	9,37	13,81	11,75
		2,48	2,32	2,64	1,49	1,32	1,66	1,46	2,55
		1,11	1,04	1,18	0,665	0,590	0,740	0,655	1,14
	60'	17,23	14,84	29,78	25,17	13,42	14,18	21,99	19,10
		2,50	2,27	6,09	1,79	2,19	1,87	1,69	4,27
		1,12	1,02	2,72	0,799	0,977	0,834	0,754	1,91
Glutamin	30'	12,04	9,01	14,75	14,21	11,28	12,67	12,76	13,03
		1,98	1,41	2,74	1,71	0,787	1,31	1,80	1,95
		0,883	0,632	1,23	0,766	0,352	0,584	0,804	0,873
	60'	17,92	17,99	24,72	22,79	17,00	20,45	23,30	22,34
		2,31	2,51	4,40	2,50	2,04	2,71	2,27	3,06
		1,04	1,12	1,97	1,12	0,910	1,21	1,02	1,37
Glutamat	30'	0,530	0,632	0,524	0,003	0,008	0,233	0,301	- 0,144
		0,577	0,404	0,422	0,380	0,516	0,414	0,577	0,833
		0,258	0,180	0,189	0,170	0,231	0,185	0,258	0,372
	60'	1,21	0,617	0,986	0,268	- 0,488	0,323	- 0,054	- 0,027
		0,307	0,401	0,382	0,625	0,492	0,399	0,687	1,06
		0,137	0,179	0,171	0,279	0,220	0,179	0,307	0,476

Die Versuchsgruppen der Tabellen 7 und 8 umfassen jeweils n=5

Tab. 9 Lactat-Pyruvat-Quotienten im Perfusionsmedium

		0'	30'	60'
ADX-DIAB	gefüttert	12,69 0,738 0,330	19,76 2,38 1,07	29,53 6,58 2,94
	gehungert	13,51 1,36 0,610	20,90 1,80 0,803	33,34 4,93 2,20
ADX-DIAB +Betamethason	gefüttert	13,88 0,402 0,180	17,69 2,16 0,965	21,32 3,29 1,47
	gehungert	11,68 1,22 0,547	17,41 1,94 0,869	23,09 3,52 1,58
ADX-DIAB +Insulin	gefüttert	12,39 1,96 0,875	21,18 4,11 1,84	29,42 2,90 1,30
	gehungert	11,97 2,34 1,05	20,83 5,10 2,28	32,82 10,41 4,66
ADX-DIAB +Betamethason +Insulin	gefüttert	12,10 1,65 0,739	15,93 2,07 0,928	20,81 2,81 1,26
	gehungert	12,52 1,68 0,751	17,79 2,70 1,21	23,39 3,99 1,79

n=5 in jeder Versuchsgruppe

Tab. 10 Glucose-, Glykogen- und Alanin-Gehalt des M.gastrocnemius

		ADX-DIAB		ADX-DIAB +B		ADX-DIAB +I		ADX-DIAB +B+I	
		gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert
Glucose (µmol/ml intrazell. Wasser)		2,47 1,14 0,512	1,16 0,468 0,209	1,41 1,38 0,615	0,400 0,671 0,300	4,30 2,90 1,30	3,20 0,870 0,389	4,65 3,17 1,42	2,74 0,635 0,284
Glykogen (mg/g Musk.)	FG	3,96 0,750 0,335	3,48 0,302 0,135	3,47 0,791 0,354	3,17 0,530 0,237	4,88 0,268 0,120	4,14 0,672 0,301	5,46 1,20 0,537	4,34 0,550 0,246
	TG	16,65 1,95 0,871	14,41 1,80 0,805	14,92 3,26 1,46	13,43 2,47 1,11	22,21 3,11 1,39	18,69 1,88 0,841	22,96 5,05 2,26	18,37 2,00 0,893
Alanin	FG	2,36 0,184 0,082	1,82 0,129 0,057	2,73 0,146 0,065	2,23 0,235 0,105	1,64 0,668 0,299	1,46 0,230 0,103	2,31 0,511 0,229	2,06 0,539 0,241
	TG	10,67 1,51 0,675	7,54 0,812 0,363	11,78 0,763 0,341	9,45 1,18 0,527	7,21 2,49 1,11	6,71 1,58 0,708	9,71 2,19 0,978	8,74 2,28 1,02

Tab. 11 Pyruvat-, Lactat- und Citrat-Gehalt des M.gastrocnemius

		ADX-DIAB		ADX-DIAB +B		ADX-DIAB +I		ADX-DIAB +B+I	
		gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert
Pyruvat	FG	0,123 0,020 0,009	0,094 0,017 0,008	0,074 0,019 0,009	0,090 0,042 0,019	0,093 0,022 0,010	0,075 0,019 0,008	0,096 0,020 0,009	0,091 0,035 0,016
	TG	0,566 0,172 0,077	0,392 0,090 0,040	0,325 0,106 0,048	0,384 0,192 0,086	0,418 0,102 0,046	0,344 0,089 0,040	0,402 0,082 0,036	0,387 0,159 0,071
Lactat	FG	2,96 0,841 0,376	3,10 1,19 0,534	2,11 0,313 0,140	2,97 1,27 0,568	2,77 0,532 0,238	2,41 0,338 0,151	2,23 0,214 0,096	2,17 0,400 0,179
	TG	13,97 6,81 3,04	12,87 5,17 2,31	9,10 1,46 0,652	12,66 5,77 2,58	12,59 2,95 1,32	11,14 2,88 1,29	9,39 1,01 0,454	9,19 1,76 0,789
Citrat	FG	0,175 0,032 0,014	0,186 0,020 0,009	0,160 0,031 0,014	0,142 0,018 0,008	0,257 0,118 0,053	0,228 0,051 0,023	0,210 0,129 0,058	0,208 0,094 0,042
	TG	0,778 0,178 0,080	0,774 0,135 0,061	0,692 0,140 0,063	0,601 0,085 0,038	1,14 0,452 0,202	1,02 0,151 0,068	0,877 0,522 0,233	0,877 0,382 0,171

Tab.10 und 11: n=5 in jeder Versuchsgruppe

Tab. 12 Glucose-6-phosphat- und Fructose-6-phosphat-Gehalt des M.gastrocnemius

		ADX-DIAB		ADX-DIAB +B		ADX-DIAB +I		ADX-DIAB +B+I	
		gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert	gefüttert	gehungert
G-6-P	FG	0,235	0,273	0,233	0,274	0,362	0,282	0,414	0,311
		0,027	0,037	0,020	0,041	0,018	0,040	0,098	0,071
		0,012	0,017	0,009	0,019	0,008	0,018	0,044	0,032
	TG	1,06	1,13	1,01	1,16	1,64	1,27	1,74	1,31
		0,166	0,150	0,110	0,172	0,171	0,060	0,420	0,279
		0,074	0,067	0,049	0,077	0,076	0,027	0,188	0,125
F-6-P	FG	0,037	0,049	0,051	0,046	0,052	0,043	0,061	0,048
		0,008	0,016	0,006	0,007	0,006	0,008	0,020	0,008
		0,004	0,007	0,002	0,003	0,003	0,004	0,009	0,003
	TG	0,158	0,203	0,221	0,194	0,238	0,196	0,257	0,201
		0,031	0,073	0,029	0,025	0,046	0,031	0,085	0,028
		0,014	0,032	0,013	0,011	0,021	0,014	0,038	0,012

pro Versuchsgruppe: n=5

Tab. 13

Glucose-6-phosphat-Gehalt des M.gastrocnemius [µmol/30g FG]
Glucoseaufnahmerate durch die Muskulatur [µmol/30g Musk./60min]

ADX-DIAB gefüttert n=5	ADX-DIAB gehungert n=5	ADX-DIAB +Insulin gefüttert n=5	ADX-DIAB +Insulin gehungert n=5
0,020	0,030	0,021	0,021
0,005	0,004	0,004	0,002
0,002	0,002	0,002	0,001
ADX-DIAB +Betamethason gefüttert n=5	**ADX-DIAB +Betamethason gehungert n=5**	**ADX-DIAB +Betamethason +Insulin gefüttert n=5**	**ADX-DIAB +Betamethason +Insulin gehungert n=5**
0,051	0,059	0,025	0,024
0,016	0,022	0,003	0,006
0,007	0,010	0,001	0,003

Zusammenfassung der Ergebnisse der Perfusionsexperimente

1) Die Glucoseaufnahmerate ist unter Betamethason halbiert.Die signifikante Glucoseaufnahme-Steigerung durch Insulin wird durch einmalige Glucocorticoidgabe nicht beeinflußt.

2) Der G-6-P-Gehalt des M.gastrocnemius wird durch Betamethason nicht verändert.

3) Der Citratgehalt des M.gastrocnemius gefütterter Tiere ist nach Betamethasonvorbehandlung nicht erhöht, im Hungerzustand sogar erniedrigt.

4) Nach 60-minütiger Perfusion ist der Glykogengehalt des M.gastrocnemius 24 Stunden gehungerter Tiere fast so hoch wie derjenige gefütterter adrenalektomiert-diabetischer Ratten.Glucocorticoidvorbehandlung führt zu keiner wesentlichen Änderung der vermehrten Glykogendeposition unter Insulinzusatz.

5) Betamethason senkt die Lactatproduktion bei gefütterten Tieren und läßt sie unbeeinflußt bei 24 Stunden gehungerten Ratten.Nach Insulinzusatz folgt eine leichte Steigerung der Lactatfreisetzungsrate.

6) Einer Pyruvatabgabe unter Betamethason steht eine Pyruvataufnahme unter Insulin gegenüber.

7) Die Werte der Lactat-Pyruvat-Quotienten nehmen nach Glucocorticoidgabe signifikant ab.

8) Die Alaninabgabe wird durch Glucocorticoide gesteigert;Insulin zeigt einen entgegengesetzten Effekt.

9) Insulin hat keinen Einfluß auf die Glutaminproduktion durch die Skelettmuskulatur;Betamethasongabe sowie die Kombination beider Hormone führen zu einer signifikanten Glutaminmehrproduktion.

Diskussion

Streptozotocin als Diabetogenicum

Das als Antibioticum entdeckte und von dem Strahlenpilz Streptomyces achromogenes var.128 produzierte Streptozotocin ist chemisch eine Verbindung aus der Gruppe der Nitrosamide.Es hat den systematischen Namen N-d-Glucosyl (2)-N'-nitroso-methylharnstoff.
Von der Substanz ist neben einer antibiotischen,zytostatischen,karzinogenen und mutagenen Wirkung (115) seit 1962 auch eine diabetogene Wirksamkeit bekannt (106).
Ab der 24.Stunde nach Applikation des Streptozotocins bleibt der Blutzuckerspiegel permanent erhöht (73),und schon 48 Stunden nach STR-Gabe sind die B-Zellen im Pankreas degranuliert (2).Nach sechs Tagen zeigen die Langerhansschen Inseln eine deutliche Verkleinerung (59).
Widersprüchliche Befunde finden sich über den Zustand der A-Zellen.Sowohl Intaktheit als auch weitgehende Degranulation dieser Zellgruppe nach STR-Applikation werden beschrieben (59,63).
Der in den vorliegenden Experimenten nach intraperitonealer Injektion von Streptozotocin aufgetretene mittelschwere Diabetes mellitus erfährt eine markante Änderung durch die gleichzeitig ausgeführte Adrenalektomie nach einer 24-stündigen Fastenperiode der Tiere.Für das in dieser Situation auftretende Absinken des Blutglucosespiegels auf hypoglykämische Werte ist nicht das Streptozotocin verantwortlich zu machen;denn auch Alloxandiabetische Ratten zeigen nach Adrenalektomie dieses Verhalten.KRAHL & CORI (76) nennen einen Blutzuckerwert von 12 mg/dl für eine Alloxan-diabetische und adrenalektomierte Ratte,die 24 Stunden zuvor gehungert hatte.
Ein durch Streptozotocin induzierter Diabetes mellitus, der,wie in den hier beschriebenen Versuchen,sechs Tage

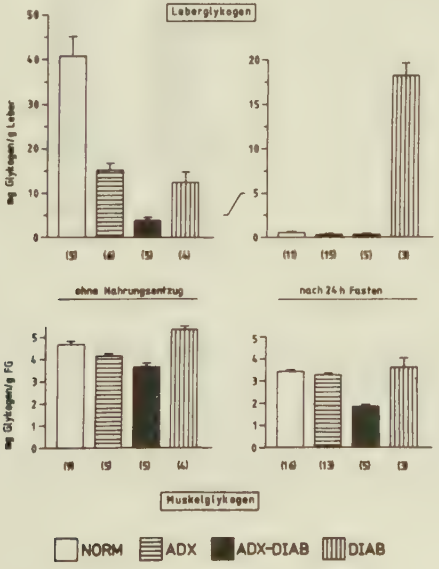
lang besteht,beeinflußt die Integrität der Skelettmuskulatur der Ratte wahrscheinlich nicht.Während der chronische STR-Diabetes (zehn Wochen) unterschiedliche Effekte auf die Ultrastruktur der drei Fasertypen des Skelettmuskels der Ratte ausübt (3,25),sind in Muskel-Mitochondrien von Kurzzeit-diabetischen Ratten (sechs Tage) keine metabolischen Defekte beobachtet worden (59).

in vivo-Befunde zum Zeitpunkt der Perfusion

Glykogengehalte von Muskel und Leber adrenalektomiert-diabetischer Ratten

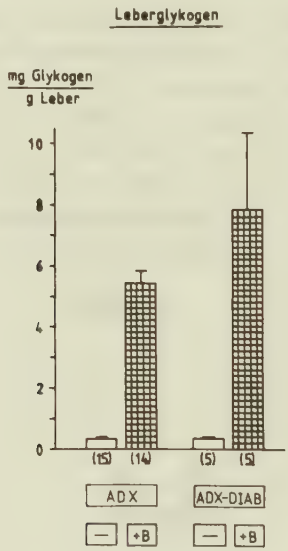
Der Glykogengehalt des M.gastrocnemius adrenalektomiert-diabetischer Ratten beträgt 78 Prozent der Konzentration, die im Muskel von Normaltieren gemessen wurde.Adrenalektomierte Tiere haben einen um 11 Prozent höheren,diabetische sogar einen um 31 Prozent höheren Muskel-Glykogengehalt als adrenalektomiert-diabetische Ratten.
24-stündiges Fasten reduziert die Glykogenkonzentration um 49 Prozent.Verglichen mit dieser starken Entleerung des muskulären Glykogenspeichers adrenalektomiert-diabetischer Tiere um fast die Hälfte,nimmt die Glykogenkonzentration des M.gastrocnemius bei diabetischen Ratten im Hunger nur um knapp ein Drittel,und bei adrenalektomierten gar nur um ein Fünftel ab.Normaltiere büßen rund ein Viertel ihres Glykogendepots im M.gastrocnemius während 24-stündigen Fastens ein;ein Befund,der auch von anderen Untersuchern erhoben wurde (28).
Dem Abfall des Muskelglykogens geht im Hunger eine 91-prozentige Verminderung des Leber-Glykogengehaltes bei den adrenalektomiert-diabetischen Ratten parallel.

Abb. 20



Wie im Rahmen der weiteren Diskussion noch näher angesprochen wird,ist wohl die verringerte Freisetzung gluconeogenetischer Präcursoren (v.a. Alanin und andere Aminosäuren) für die stark erniedrigten Leber- und Muskel-Glykogengehalte der 24 Stunden gehungerten adrenalektomiert-diabetischen Ratten verantwortlich.Auch die unter solchen Bedingungen auftretende Hypoglykämie dieser Tiere wäre eine Konsequenz der unzureichenden Gluconeogenese.
Schon 3,5 Stunden nach Betamethasonapplikation erfolgt eine starke Glykogenanreicherung in der Leber der gehungerten adrenalektomiert-diabetischen Ratten.Auch adrenalektomierte Tiere reagieren innerhalb des gleichen Zeitraumes mit einer signifikanten Steigerung des Leber-Glykogengehaltes auf die Gabe des Glucocorticoids.

Abb. 21



Dieser Befund wird in ähnlicher Weise von anderen Untersuchern an normalen (64,85),diabetischen (64) und adrenalektomierten Ratten (77) bestätigt.
HANDUNE & CHAMBAUT (64) beschreiben eine Verdopplung des Leberglykogens sechs Stunden nach Cortisongabe an Allo-

xan-diabetischen Ratten,während KREUTNER & GOLDBERG (77) zwei Stunden nach Hydrocortisoninjektion und Glucosegabe keine signifikanten Veränderungen des Leber-Glykogengehaltes adrenalektomiert-diabetischer Ratten feststellen konnten.Sie (77) führen die mangelnde Aktivierung des Glykogen-synthetisierenden Apparates nach Glucocorticoidgabe auf die fehlende Vermittlung durch Insulin zurück,welches auf die hepatische Glykogensynthese stimulierend wirkt.Die vorliegenden Befunde stützen jedoch die Ergebnisse von HANOUNE & CHAMBAUT,wonach eine Glucocorticoid-induzierte Steigerung der Glykogendeposition in der Leber nicht auf die Anwesenheit von Insulin angewiesen ist.

Perfusionsexperimente

A) Glucoseaufnahme des Hinterkörper-Präparates

Die Muskulatur adrenalektomiert-diabetischer Ratten nimmt während 60-minütiger Hinterkörper-Perfusion mehr Glucose aus dem Medium auf als es bei diabetischen Tieren der Fall ist (DIAB (n=6) gef.:120,52 µmol/30 g Musk., geh.: 213,16 µmol/30 g Musk.).KRAHL & CORI (76) fanden am Diaphragma adrenalektomiert-diabetischer Ratten ebenfalls eine erhöhte Glucoseaufnahmerate verglichen mit derjenigen diabetischer Ratten.
Nach 24-stündiger Nahrungskarenz wird die Aufnahme von Glucose durch die Muskulatur eingeschränkt;die Reduktion ist jedoch statistisch nicht signifikant.
Eine Betamethasonvorbehandlung hemmt die Glucoseaufnahme des Hinterkörpers bei den gefütterten Tieren um 57 Prozent und in der gehungerten Versuchsgruppe um 43 Prozent. Hier liegt ein evidenter und hochsignifikanter Glucocorticoideffekt vor;er ist mehr als doppelt so stark ausgeprägt wie beim adrenalektomierten Tier.
Eine die Glucoseaufnahme hemmende Glucocorticoidwirkung wird von anderen Autoren für die Muskulatur weitgehend verneint (8,48,55,83,99,100,112,131,137,141),ist jedoch an einigen anderen Geweben,wie der Haut,dem Fettgewebe und dem lymphatischen Gewebe bereits nachgewiesen (100). SMITH (131),der den Effekt von Cortisol auf den Glucosestoffwechsel eviszerierter adrenalektomiert-diabetischer Ratten untersucht hat,berichtet,daß der Abfall der Blutglucose nach Eviszeration durch die Gabe von Cortisol vermindert wird.Er schreibt diesen Effekt aber nicht einer peripheren Glucoseutilisationshemmung zu,sondern verweist auf die Bedeutung der renalen Gluconeogenese;denn die Unterbindung beider Nieren verringert bei seinen Tieren deutlich den oben beschriebenen Cortisoleffekt auf den Glucoseabfall von eviszerierten adrenalektomiert-diabetischen Ratten.
Das Fettgewebe reagiert ebenfalls auf Glucocorticoide mit

einer Reduzierung des Glucosestoffwechsels.Die Applikation von Dexamethason an Ratten-Adipozyten schränkt deren Fähigkeit,Glucose zu oxidieren,ein.Die Untersucher (7,32) schreiben diesen Steroideffekt einer Hemmung des Glucosetransportes zu.Diese Ansicht bestätigende Befunde werden von Untersuchungen am menschlichen Fettgewebe mitgeteilt (26).

Deutliche Hemmeffekte von Glucocorticoiden auf den Glucosestoffwechsel der Mäusehaut werden beschrieben (90,103). MATSUI & PLAGER (90) vermuten den Angriffspunkt dieser anti-insulinären Glucocorticoidwirkung entweder in der Glucosepassage durch die Zellmembran oder im nachgeschalteten Hexokinase-System,wobei sie den ersteren Mechanismus favorisieren.

Nach den eigenen Befunden liegt der Angriffspunkt des Betamethasons wohl eher in der Zellmembran der Skelettmuskelzelle als im Hexokinase-System.Eine unter Betamethason möglicherweise veränderte Glucose-6-phosphat-Bildung,die an eine Produkthemmung der Hexokinase denken lassen könnte,wird nicht beobachtet.Wie ein Vergleich des Glucose-6-phosphat-Gehaltes im M.gastrocnemius mit der Glucoseaufnahmerate zeigt (Tab.13),ist die Glucosephosphorylierung nach Glucocorticoidgabe nicht eingeschränkt.

Auch das Verhalten des Citrats bietet keinen Anhalt dafür, daß die Hemmung der Glucoseaufnahme durch die Muskulatur über einen Mechanismus zustande kommt,wie er von RANDLE et al. (107) im "Glucose-Fettsäuren-Zyklus" angegeben wird. Experimentell gestützt wurde das Funktionieren dieses Zyklus' durch Untersuchungen am Rattenherzen und -diaphragma (107,108).Danach soll durch eine verstärkte Fettsäurenmobilisation und -oxidation die Citratkonzentration ansteigen,konsekutiv die Aktivität der Phosphofructokinase gehemmt werden,eine Anhäufung von Glucose-6-phosphat erfolgen,die Hexokinase gehemmt und dadurch die Glucoseaufnahmerate vermindert werden.Die Citratkonzentration liegt in den mit Betamethason vorbehandelten Gruppen niedriger als

bei den adrenalektomiert-diabetischen Kontrollen;das Zustandekommen der Glucoseaufnahme-Hemmung über den oben beschriebenen Regulationsweg unter Glucocorticoiden erscheint somit unwahrscheinlich.
Einen weiteren Hinweis dafür bietet die Tatsache,daß bei Untersuchungen an adrenalektomierten Tieren nach Betamethasongabe keine akute Änderung der Freisetzung von Fettsäuren festgestellt werden konnte (80).
Der Effekt der Fettsäuren auf die Hemmung der Glucoseutilisation des perfundierten Rattenhinterkörpers ist ohnehin umstritten und wird überwiegend abgelehnt (12, 58,109,110,120).
Nachdem die Erklärung der Glucoseaufnahme-Hemmung über indirekte Mechanismen auszuscheiden scheint,ist an eine direkte Einwirkungsmöglichkeit der Glucocorticoide auf die Muskulatur zu denken.Diese Möglichkeit ist durch den Nachweis spezifischer Glucocorticoidrezeptoren im Skelettmuskel der Ratte gegeben,wobei in adrenalektomiert-diabetischen Ratten lediglich eine leichte Verminderung der Glucocorticoid-spezifischen Bindungsaktivität beobachtet wurde (92,93,95).
Die oben beschriebene Betamethasonwirkung auf den Skelettmuskel der Ratte kann somit als eine direkte Interaktion mit einem primären Zielorgan für Glucocorticoide angesehen werden (94).
Die Gabe von 0,5 mU/ml Insulin hat an der Muskulatur der adrenalektomiert-diabetischen Ratte den gleichen,die Glucoseaufnahmerate steigernden Effekt,der von anderen Untersuchungen bekannt ist (1,18,21,37,38,84,101).
In den vorliegenden Untersuchungen wurde eine Glucoseaufnahme-Steigerung beim gefütterten Tier um 51 Prozent und beim gehungerten Tier um 48 Prozent ermittelt.Damit ist die Ansprechbarkeit des isoliert perfundierten Rattenhinterkörpers auf exogen zugeführtes Insulin bei bestehender doppelter Hormondefizienz an Glucocorticoiden und Insulin erwiesen.

Die kombinierte Applikation von Betamethason und Insulin zeigt das gleiche Ergebnis wie die Gabe von Insulin allein, d.h.,die akute Betamethasonwirkung kommt in Anwesenheit größerer Mengen Insulin nicht mehr zum Tragen.Neuere Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zeigen,daß eine Langzeit-Glucocorticoidgabe die Steigerung der Glucoseaufnahme nach Zusatz von Insulin zum Medium deutlich reduziert.

B) Glykogensynthese im M.gastrocnemius

Der Glykogengehalt des M.gastrocnemius weist nach 60-minütiger Perfusion keinen signifikanten Unterschied zwischen den unbehandelten und mit Betamethason vorbehandelten Versuchsgruppen auf.Dies bestätigt die an adrenalektomierten Tieren erhobenen Befunde (80,136).
Beachtet man die unterschiedlichen Glykogen-Ausgangslagen (Abb.5) sowie die verminderte Glucoseaufnahme unter dem Einfluß des Glucocorticoids,mag man annehmen,daß diese beiden Faktoren die Glykogenbildung während der Perfusion nicht beeinflussen.Bei genügendem Glucoseangebot im Perfusat (11 mM initial) läuft offenbar die Glykogensynthese hormonunabhängig soweit ab,bis die normalen Spiegel wieder erreicht sind.Als Stimulus für die Wiederauffüllung des Muskel-Glykogenpools gilt die niedrige Glykogenkonzentration selbst,welche die Glykogen-Synthetase aktiviert (29,36,47).
Die in den Reihen ADX-DIAB und ADX-DIAB+B gemessenen Glykogenkonzentrationen liegen in der Größenordnung der Werte,die bei adrenalektomierten Tieren nach einstündiger Perfusion ermittelt wurden (ADX gef.:4,45 mg/g FG , ADX geh.:3,51 mg/g FG).Die diabetische Stoffwechsellage scheint also den Vorgang der Glykogenablagerung während der Perfusion nicht zu beeinflussen.
Interessant ist,daß die 24 Stunden gefasteten adrenalek-

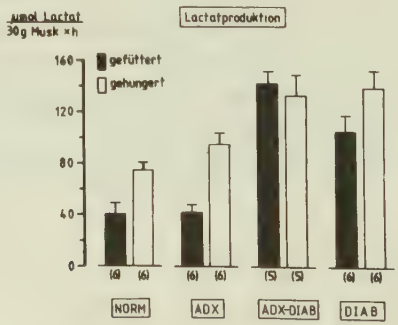
tomiert-diabetischen Ratten ebensoviel Glucose in Glykogen umwandeln,wie sie im Verlauf der Perfusion aufnehmen. Der Zusatz von 0,5 mU Insulin/ml zum Perfusionsmedium bewirkt innerhalb der Perfusionszeit einen deutlichen Anstieg der Glykogenkonzentration im M.gastrocnemius.Dieser Effekt,der auf eine Stimulierung der Glykogen-Synthetase zurückgeht,wurde auch von anderen Autoren beschrieben (1, 27,144).
Eine Vorbehandlung mit Betamethason führt zu keiner zusätzlichen Stimulierung der Glykogensynthese unter Insulin.

C) Freisetzung gluconeogenetischer Präcursoren durch die Muskulatur

a) Lactat

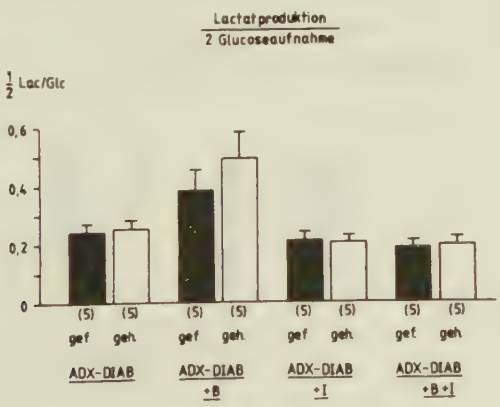
Die Lactatproduktionsraten des Hinterkörpers adrenalektomiert-diabetischer Ratten während 60-minütiger Perfusion zeigen im Vergleich zu denen normaler,adrenalektomierter und diabetischer Tiere zwei Besonderheiten (Abb. 22) : zum einen ist die absolute Höhe der Lactatfreisetzung durch die Muskulatur adrenalektomiert-diabetischer Ratten im gefütterten Zustand gegenüber derjenigen der übrigen Versuchsgruppen erhöht,zum anderen erfolgt bei den adrenalektomiert-diabetischen Tieren nach 24-stündiger Nahrungskarenz kein Anstieg der Lactatproduktionsrate,wie dies bei den normalen,adrenalektomierten und diabetischen Ratten zu beobachten ist.

Abb. 22



Die Lactatproduktionsraten des Hinterkörpers normaler und adrenalektomierter Tiere spiegeln die erhaltene Insulinwirkung wider.
Die erhöhte Lactatoxidation unter Insulin (12) resultiert in einer niedrigeren Freisetzungsrate in den Reihen mit erhaltener Insulinproduktion verglichen mit den beiden insulindefizienten Reihen.
Bei den adrenalektomiert-diabetischen Tieren ergibt sich nach Zusatz von Insulin zum Perfusat eine leichte Steigerung der Lactatfreisetzung.Hier vermag der die Lactatoxidation steigernde Insulineffekt wohl infolge der erhöhten Glucoseaufnahme unter den relativ hohen Hormondosen nicht durchzuschlagen.
Nach Vorbehandlung mit Betamethason scheinen die Enzymreaktionen der Glykolyse selbst nicht beeinträchtigt;denn die drastisch verminderte Glucoseaufnahme,die den Durchfluß durch die Glykolyse aufgrund des nun bestehenden Substratdefizits einschränkt,ist nicht von einer entsprechenden Verminderung der Lactatproduktion begleitet,ja die Lactatbereitstellung aus der aufgenommenen Glucose ist sogar relativ gesehen erhöht (Abb.23).

Abb. 23



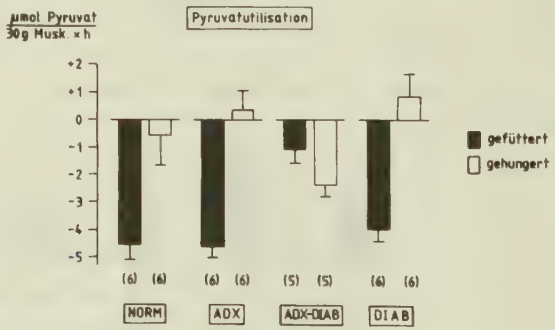
Die Lactat-Pyruvat-Quotienten (Abb.9a,b) hingegen sprechen nicht für eine entscheidende Steigerung der Glykolyserate nach Glucocorticoidgabe,sondern eher für eine möglicher-

weise auf der PDH-Ebene sich abspielende Einschränkung der Pyruvatoxidation.Das Glucocorticoid vermag somit die Lactat-Gluconeogenese,die unter physiologischen Bedingungen im frühen Hunger etwa die Hälfte der Gesamtgluconeogenese-rate ausmacht (39,65),nicht noch zusätzlich positiv zu beeinflussen;ein Befund,der auch an adrenalektomierten Ratten erhoben worden ist (80).

b) Pyruvat

Die Muskulatur gefütterter adrenalektomiert-diabetischer Ratten nimmt während der Perfusion nur rund ein Viertel der Pyruvatmenge aus dem Medium auf,die vom Hinterkörper normaler,adrenalektomierter oder diabetischer Tiere extrahiert wird.
Nach 24 Stunden Nahrungsentzug geht die Pyruvataufnahme in den drei Vergleichsreihen deutlich zurück,bzw. es wird sogar Pyruvat an das Medium abgegeben.Dieser Effekt,der mit einer Hemmung der Aktivität der aktiven Form der Pyruvatdehydrogenase im Hunger zusammenhängen kann (62),ist bei den adrenalektomiert-diabetischen Tieren nicht zu beobachten.

Abb. 24



Die vermehrte Pyruvatbereitstellung in den mit Betamethason vorbehandelten Reihen kann Ausdruck der oben schon angesprochenen Hemmung der Pyruvatdehydrogenase-Reaktion

sein,wodurch die Alaninbildung in der Alaninaminotransferase-Reaktion begünstigt wird.

c) Alanin

Die Bedeutung des Alanins für die Gluconeogenese,die sich in einer beträchtlichen Extraktion dieser Aminosäure durch die Leber (88) und einer quantitativ erheblichen Freisetzung durch die Muskulatur ausdrückt (41,42,105), führte vor mehr als zehn Jahren zur Formulierung des "Glucose-Alanin Zyklus'" (41,43,45,46,88).
Da Alanin nur zu ca. sieben Prozent an der Zusammensetzung der Muskelproteine beteiligt (75),ein alaninreiches Protein in der Muskulatur bisher nicht bekannt ist,der Anteil des Alanins an der gesamten Aminosäurenfreisetzung aus dem Muskel jedoch rund 25 Prozent beträgt (117),stellt sich aus quantitativen Überlegungen heraus die Frage nach der Herkunft des aus der Muskulatur freigesetzten Alanins.
Der "Glucose-Alanin Zyklus" bietet folgendes Konzept an: die von der Leber abgegebene Glucose wird von der Muskulatur aufgenommen und glykolysiert.Das entstehende Pyruvat wird zu Alanin transaminiert,welches den Muskel verläßt und der Leber als Gluconeogenese-Vorläufer dient. Dieser Kreislauf stellt in der gegebenen Form keinen Netto-Gewinn an Glucose dar,sondern lediglich eine Rückgewinnung.
Verschiedene Untersuchungen sprechen für die Existenz des "Glucose-Alanin Zyklus'" und die Beziehung zwischen Glykolyse und Alaninbildung (23,53,60,102,145).Der Anteil des aus Glucose entstammenden Alanins wird mit 33,6C und mehr als 97 Prozent angegeben (23,60,102).ODESSEY et al. (102) fanden überdies,daß den Aminosäuren Leucin,Isoleucin und Valin eine besondere Bedeutung für die Bereitstellung von Aminogruppen für die Alaninsynthese im Muskel zukäme,und sie postulieren einen "verzweigtkettigen Aminosäuren-Alanin Zyklus" im Organismus.
Weitere Arbeiten,die sich mit der Entstehung des Alanins

in der Muskulatur befassen,weisen darauf hin,daß nicht notwendigerweise das Kohlenstoff-Skelett für die Alaninsynthese aus dem Glucoseabbau stammen muß (104);zusätzliche Quellen,wie die Kohlenstoff-Skelette von verzweigtkettigen (Valin,Leucin) und anderen Aminosäuren (v.a. Aspartat und Glutamat) könnten für die Alaninbildung eine Rolle spielen (15,132).

Eine dritte Gruppe von Untersuchern (50,56,101) beschreibt eine funktionelle Trennung zwischen Glucosestoffwechsel und Aminosäurenfreisetzung.In diesem Fall macht die Proteolyse von Muskelproteinen Aminosäuren für die de novo-Alaninsynthese verfügbar.Der Abbau dieser Aminosäuren kann dann über Malat oder Oxalacetat verlaufen,aus denen entweder in der NADP-abhängigen Malat-Dehydrogenase-Reaktion (Malat-Enzym) oder durch Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase und Pyruvatkinase Pyruvat entsteht.Malat-Enzym und PEP-Carboxykinase sind hauptsächlich in den fast-twitch Fasern der Muskulatur vorhanden und machen hier etwa ein Zehntel der Aktivität in der Leber aus.Das entstehende Pyruvat bildet dann das direkte Ausgangsprodukt für die Transaminierungsreaktion zu Alanin.Untersuchungen unseres Arbeitskreises (123) zeigen,daß dieser Weg der Alaninbildung aus anderen Aminosäuren möglich ist;auch andere Untersucher (133,135) nehmen ihn an.

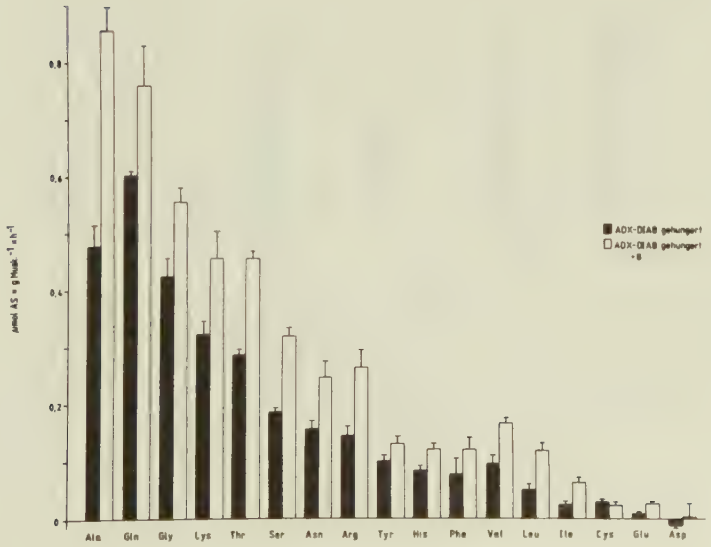
Untersuchungen zur hormonellen Beeinflussung der Alaninsynthese durch die Muskulatur lieferten bisher im wesentlichen folgende Befunde:

eine vermehrte Freisetzung im Hunger (12,50,87,102,118, 121);Katecholamine senken,Thyroxin steigert die Alaninproduktion (50,67);nach Adrenalektomie ist die Alaninsyntheserate erniedrigt (22,67,80,140),nach Glucocorticoidgabe erhöht (50,80,122,123,136,140);im Diabetes steigt die muskuläre Alaninliberation an (12,50,118,121,140),die Angaben zur Insulinwirkung sind uneinheitlich (12,50,60,71, 102,118,140).

Unser Interesse gilt vor allem der Regulation durch Gluco-

corticoide und Insulin.
Die Applikation von Betamethason am adrenalektomiert-diabetischen Tier führt zu einer Steigerung der Alaninfreisetzungsrate.
SMITH & LONG (130) berichten ebenfalls von einem deutlichen „katabolen" Effekt von Cortisol auf den Proteinstoffwechsel eviszerierter adrenalektomiert-diabetischer Ratten.Sie schließen daraus,was mit den obigen Daten in Einklang steht, daß der gluconeogenetische Effekt der Glucocorticoide nicht allein in der Wirkung auf die Leber,sondern zu einem großen Teil auch als Resultat einer vermehrten Aminosäurenfreisetzung aus extrahepatischen Geweben zu sehen sei.
Die akute Steigerung der Aminosäurenfreisetzung nach Glucocorticoidgabe (Abb.25) wird überwiegend mit einer Hemmung der Proteinsynthese erklärt (19,52,54,78,128).

Abb. 25 Aminosäurenfreisetzung während einstündiger Hinterkörper-Perfusion gehungerter adrenalektomiert-diabetischer Ratten vor (schwarze Säulen,n=4) und nach (weiße Säulen,n=4) einmaliger Glucocorticoidgabe



BULLOCK et al. (19) fanden als eine mögliche Ursache der reduzierten Proteinsynthese einen verminderten Anteil der Polyribosomen innerhalb der Ribosomenfraktion nach Glucocorticoidgabe.Nach längerfristiger Hormonapplikation werden anscheinend auch proteinabbauende Mechanismen in Gang gebracht (52,54,142).Eine Aktivitätssteigerung myofibrillärer Proteasen,die hierfür verantwortlich gemacht werden (91,94,96),konnte von SCHADEWALDT (123) nicht bestätigt werden.

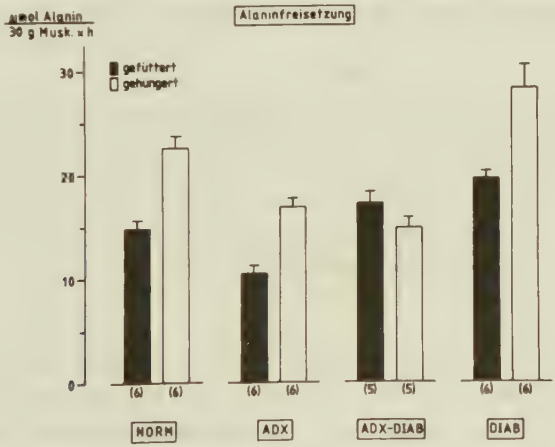
Den Glucocorticoiden entgegengesetzte Wirkungen auf den Proteinstoffwechsel sind für das Insulin beschrieben; neben einer gesteigerten Aufnahme von Aminosäuren (20,89, 149),wird auf eine Stimulation der Proteinsynthese sowie eine Hemmung des Proteinabbaus unter Insulineinfluß hingewiesen (20,35,49,70,89,113,150).

Das Schrifttum macht jedoch unterschiedliche Angaben zum Einfluß des Insulins auf die Freisetzungsrate der Aminosäure Alanin.Am Modell des perfundierten Rattenhinterkörpers ermittelten THIENHAUS et al. (140) und GRUBB (60) am Normaltier eine verminderte Alaninfreisetzungsrate unter Insulin,ebenso wie ODESSEY et al. (102) am isolierten Rattendiaphragma.RUDERMAN & BERGER (118) fanden eine signifikant verminderte Freisetzung nur im diabetischen Zustand,bei gefütterten und 48 Stunden gehungerten intakten Ratten stellten sie keine signifikanten Unterschiede fest. JEFFERSON et al. (71) entdeckten während der ersten Stunde der Hemicorpus-Perfusion mit gefütterten Ratten keine Veränderung der Alaninfreisetzungsrate bei Insulizusatz zum Perfusat.GARBER et al. (50) stellten ebenfalls keinen Effekt des Insulins auf die Alaninfreisetzung des M.epitrochlearis der Ratte fest.

Insulin senkt bei gehungerten adrenalektomiert-diabetischen Ratten die Alaninfreisetzungsrate aus der Muskulatur nicht weiter,während im gefütterten Zustand eine signifikante Abnahme festzustellen ist.

Die vorliegenden Untersuchungen vermögen nun Aufschluß über Glucocorticoid-Insulin-regulierte Mechanismen der Alaninsynthese der Skelettmuskulatur zu geben,wie sie bei der Anpassung an den frühen Hungerzustand eine Rolle spielen.
Im Glucocorticoidmangel (ADX) ist die Alaninfreisetzungsrate sowohl im Futter- als auch im Hungerzustand signifikant niedriger,im Insulinmangel (DIAB) signifikant höher als bei erhaltenem Zusammenwirken von Insulin und Glucocorticoiden beim Normaltier (NORM).Das ausgewogene Verhältnis beider Hormone sorgt für die normale Anpassung der Alaninfreisetzung an den Hungerzustand;bei doppelter Hormondefizienz (ADX-DIAB) tritt die Adaptation nicht mehr ein,d.h.,nach 24-stündiger Nahrungskarenz erfolgt kein zusätzlicher Anstieg der Alaninproduktion (Abb.26) (124-126).

Abb. 26



Die Substitutionsversuche am isoliert perfundierten Hinterkörper adrenalektomiert-diabetischer Ratten unterstützen die Ansicht,daß das akute Glucocorticoid/Insulin-

Verhältnis die Rate der Alaninsynthese durch die Skelettmuskulatur reguliert.Während die basale Freisetzungsrate nach Insulinzusatz geringfügig absinkt,wird sie durch Betamethasonvorbehandlung signifikant gesteigert.Bei der physiologischen Hungeradaptation führt der Rückgang der Insulinkomponente zum Überwiegen der Glucocorticoidwirkung,wodurch die Alaninsyntheserate dem vermehrten Bedarf entsprechend gesteigert wird.
Einbaustudien mit radioaktiv markierter Glucose lassen darauf schließen,daß der vermehrte Alaninefflux nach Glucocorticoidgabe nicht auf einer Zunahme des "Glucose-Alanin Zyklus'" beruht,sondern daß auch in diesem Fall Glucose-Kohlenstoff in der Peripherie eingespart und durch Kohlenstoff-Skelette aus Aminosäuren ersetzt wird,die aufgrund der akuten Proteinsynthese-Hemmung vermehrt zur Verfügung stehen.Sie bilden somit die Basis für die de novo-Alaninbildung in der Muskulatur (Lieferung sowohl des Kohlenstoffs als auch der Aminogruppe) (126).

D) Glutaminproduktion des perfundierten Hinterkörpers

Glutamin wird wie Alanin in einem erheblich größeren Ausmaß aus der Muskulatur freigesetzt als es seinem Anteil am Aufbau der Muskelproteine entspricht.Auch hier muß also eine de novo-Synthese stattfinden.
Der allgemein angenommene Weg ist die Glutamin-Synthetase-Reaktion (101).
Die Quelle für das Glutamin fanden CHANG & GOLDBERG (24) in den Aminosäuren Glutamat,Aspartat,Asparagin,Isoleucin und Valin.Die zusätzlich benötigte Aminogruppe soll aus anderen Aminosäuren und Nucleotiden stammen.
Auch RUDERMAN (119) ist der Auffassung,daß das Kohlenstoff-Skelett des freigesetzten Glutamins aus anderen Aminosäuren stammt,hauptsächlich Glutamat und Aspartat.
Zur Beeinflussung der Glutaminfreisetzungsrate aus dem Muskel durch Hormone finden sich im Schrifttum folgende

Befunde:

Glucocorticoide sollen am Epitrochlearis-Muskelpräparat der Ratte die Glutaminfreisetzung reduzieren (50).Am perfundierten Hinterkörper gefasteter adrenalektomierter Ratten steigt die Glutaminfreisetzungsrate nach Gabe von Betamethason gegenüber derjenigen von unbehandelten adrenalektomierten Tieren signifikant an (140).Ein ähnlicher Befund wurde von einer anderen Arbeitsgruppe erhoben (22).

Der perfundierte Hinterkörper 24 Stunden gehungerter Ratten soll auf Insulin mit einer signifikanten Verminderung der Glutaminsynthese reagieren (140).RUDERMAN & BERGER (118) bestätigen diesen Befund an gefütterten und diabetischen Ratten.48 Stunden gehungerte Tiere zeigten nur geringfügig verringerte Freisetzungsraten. JEFFERSON et al. (71) fanden einen eindeutig hemmenden Insulineffekt erst ab der zweiten Perfusionsstunde.Keine Wirkung des Insulins auf die Glutaminproduktionsrate fanden GARBER et al. (50).

Die an den adrenalektomiert-diabetischen Ratten erhobenen Befunde lassen keinen Effekt des Insulins auf die Freisetzung des Glutamins durch die Muskulatur erkennen.Die signifikante,die Freisetzungsrate steigernde Betamethasonwirkung,wird durch Insulin nicht beeinflußt.Die unbedeutenden Änderungen der Glutaminproduktion nach Insulinzusatz zum Medium korrelieren gut mit der fehlenden Hungeradaptation bei intakten Tieren,denn auch mit Rückgang der Insulininkretion nach 24 Stunden Nahrungsentzug erfährt die Glutaminsynthese der Muskulatur keine Änderung gegenüber dem Futterzustand.Die Werte für Normaltiere liegen im Bereich der Werte der Versuchsgruppen ADX-DIAB+B und ADX-DIAB+B+I.Adrenalektomierte Tiere haben eine Freisetzungsrate wie adrenalektomiert-diabetische Ratten.

Die Unabhängigkeit der Glutaminfreisetzung vom Fütterungszustand wird von anderen Untersuchern bestätigt (87,118,

119).
Das Schicksal des in der Peripherie freigesetzten Glutamins ist ein anderes als das des Alanins.
Während der Hauptweg des Alanins in die Lebergluconeogenese und den Harnstoffzyklus mündet (88,114),stellt das Glutamin einen wichtigen Energielieferanten für den Darm, vornehmlich den Dünndarm,dar (44,67,68,148).Außerdem steht es im Nierenstoffwechsel als Gluconeogenesevorläufer zur Verfügung und trägt dort zur Säure-Basen-Balance bei (45,57,101).

Zusammenfassung

Akute Glucocorticoid- und Insulinwirkungen auf den Muskelstoffwechsel adrenalektomiert-diabetischer Ratten wurden am Modell des isoliert perfundierten Hinterkörpers untersucht.

Die metabolische in vivo-Ausgangssituation der 24 Stunden gehungerten Tiere unterschied sich von derjenigen gefütterter Ratten durch eine Hypoglykämie, die die unzureichende Bereitstellung von Gluconeogenese-Vorläufern widerspiegelte, sowie durch stark erniedrigte Leber- und Muskel-Glykogengehalte.

Die Konzentration des Glykogens in der Leber erreichte schon 3,5 Stunden nach einmaliger Betamethasongabe insulinunabhängig signifikant höhere Werte.

Die in den Perfusionsexperimenten erhobenen Befunde stellen sich wie folgt dar:

1) Die Glucoseaufnahme der Muskulatur wird durch Betamethason sowohl bei gefütterten als auch bei gehungerten Tieren hochsignifikant gehemmt. Dieser akute Hemmeffekt, der nicht mit Rückkopplungsmechanismen in Verbindung gebracht werden kann, hat keinen Einfluß auf die insulinbedingte Glucoseaufnahme-Steigerung.
2) Die zu Perfusionsbeginn bei den gehungerten Ratten vorhandenen niedrigen Muskel-Glykogenspiegel werden während der Perfusion wiederaufgefüllt. Insulin stimuliert zusätzlich die Glykogenablagerung; Betamethason zeigt keinen Effekt auf diesen Prozeß.
3) Nach Glucocorticoidgabe erfolgt keine absolute Steigerung der Lactatfreisetzung; die relative Produktionsrate (Lactat/Glucoseaufnahme) wird jedoch erhöht. Gleichzeitig bedingt Betamethasonvorbehandlung eine vermehrte Pyruvatbereitstellung, die unter zusätzlichem Insulineinfluß besonders ausgeprägt ist.
4) 24 Stunden gehungerte adrenalektomiert-diabetische Ratten können die Alaninsynthese in der Muskulatur im Vergleich zu gefütterten Tieren nicht weiter steigern.

Betamethason erhöht die Alaninfreisetzungsrate signifikant,Insulin senkt sie.
Wie der Vergleich zu intakten und einfach hormondefizienten Ratten zeigt,ist die Glucocorticoid-Insulin-Wechselwirkung auf die Muskulatur als ein grundlegender physiologischer Regelmechanismus der Alaninfreisetzung anzusehen.

5) Die Glutaminfreisetzungsrate aus der Muskulatur wird durch Glucocorticoide stimuliert;kurzfristige Insulingabe zeigt keine modulierende Wirkung.

Literaturverzeichnis

1. ABRAMOVA,V.V., FEDOTOV,V.P.
Effect of Insulin and Glucose on the Glucose Consumption and Glycogen Synthesis by the Rat Diaphragm
Bull Exp Biol Med 77 (1974), 764-766

2. ARISON,R.N., CIACCIO,E.I., GLITZER,M.S., CASSARO,J.A., PRUSS,M.P.
Light and Electron Microscopy of Lesions in Rats Rendered Diabetic with Streptozotocin
Diabetes 16 (1967), 51-56

3. ARMSTRONG,R.B., GOLLNICK,P.D., IANUZZO,C.D.
Histochemical Properties of Skeletal Muscle Fibers in Streptozotocin-Diabetic Rats
Cell Tissue Res 162 (1975), 387-394

4. ARNETT,J.H.
Addison's Disease and Diabetes Mellitus Occuring Simultaneously
Arch Intern Med 39 (1927), 698-704

5. BARNA,S.
Gleichzeitiges Vorkommen von Addisonscher Krankheit und Diabetes mellitus
MMW 48 (1956), 1648-1649

6. BARTA,L., GATTYAN,E., SIMON,S.
Gleichzeitiges Vorkommen von juvenilem Diabetes und Addisonscher Krankheit
Klin Paediatr 189 (1977), 239-243

7. BARTHOLD,D.R., BRAS,G.
Effects of Dexamethasone on Glucose Metabolism
Nutr Rev 34 (1976), 185-187

8. BAXTER,J.D., FORSHAM,P.H.
Tissue Effects of Glucocorticoids
Am J Med 53 (1972), 573-589

9. BEAVEN,D.W., NELSON,D.H., RENOLD,A.E., THORN,G.W.
Diabetes Mellitus and Addison's Disease
- A Report of Eight Patients and a Review of 55 Cases in the Literature
N Engl J Med 261 (1959), 443-454

10. BEIS,I., NEWSHOLME,E.A.
The Contents of Adenine Nucleotides,Phosphagens and some Glycolytic Intermediates in Resting Muscles from Vertebrates and Invertebrates
Biochem J 152 (1975), 23-32

11. BERGER,M., HAGG,S., RUDERMAN,N.B.
Glucose Metabolism in Perfused Skeletal Muscle
- Interaction of Insulin and Exercise on Glucose Uptake
Biochem J 146 (1975), 231-238

12. BERGER,M., HAGG,S.A., GOODMAN,M.N., RUDERMAN,N.B.
Glucose Metabolism in Perfused Skeletal Muscle
- Effects of Starvation,Diabetes,Fatty Acids, Acetoacetate,Insulin and Exercise on Glucose Uptake and Disposition
Biochem J 158 (1976), 191-202

13. BERNT.E., BERGMEYER,H.U.
L-Glutamat,UV-Test mit Glutamat-Dehydrogenase und NAD
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U., Hrsg.), Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 1749-1753

14. BETKE,K., SAVELSBERG,W.
Stufenphotometrische Hämoglobinbestimmung mittels Cyanhämiglobin
Biochem Z 320 (1950), 431-439

15. BLACKSHEAR,P.J., HOLLOWAY,P.A.H., ALBERTI,K.G.M.M.
Factors Regulating Amino Acid Release from Extrasplanchnic Tissues in the Rat
Biochem J 150 (1975), 379-387

16. BLOOMFIELD,A.L.
The Coincidence of Diabetes Mellitus and Addison's Disease
Johns Hopkins Hosp Bull 65 (1939), 456-465

17. BODA,Z., DROSZ,L., MISZ,M., SZABO,G., GERGELY,P., KULCSAR,A.
Diabetes mellitus und Addisonsche Krankheit
Endokrinologie 67 (1976), 215-219

18. DE BODO,R.C., STEELE,R., ALTZULER,N., DUNN,A., BISHOP,J.S.
On the Hormonal Regulation of Carbohydrate Metabolism;Studies with C^{14}Glucose
Recent Prog Horm Res 19 (1963), 445-488

19. BULLOCK,G.R., CARTER,E.E., ELLIOTT,P., PETERS,R.F., SIMPSON,P., WHITE,A.M.
Relative Changes in the Function of Muscle Ribosomes and Mitochondria during the Early Phase of Steroid-Induced Catabolism
Biochem J 127 (1972), 881-892

20. BUSE,M.G., BUSE,J.
Effect of Fatty Acids and Insulin on Protein Synthesis and Amino Acid Metabolism of Isolated Rat Diaphragms
Diabetes 16 (1967), 753-764

21. CAHILL,Jr.,G.F.
Physiology of Insulin in Man
Diabetes 20 (1971), 785-799

22. CALDWELL,M.D., LACY,W.W., EXTON,J.H.
Effects of Adrenalectomy on the Amino Acid and Glucose Metabolism of Perfused Rat Hindlimbs
J Biol Chem 253 (1978), 6837-6844

23. CHANG,W., GOLDBERG,A.L.
The Origin of Alanine Produced in Skeletal Muscle
J Biol Chem 253 (1978), 3677-3684

24. CHANG,W., GOLDBERG,A.L.
The Metabolic Fates of Amino Acids and the Formation of Glutamine in Skeletal Muscle
J Biol Chem 253 (1978), 3685-3695

25. CHAO,T.T., IANUZZO,C.D., ARMSTRONG,R.B., ALBRIGHT,J.T., ANAPOLLE,S.E.
Ultrastructural Alterations in Skeletal Muscle Fibers of Streptozotocin-Diabetic Rats
Cell Tissue Res 168 (1976), 239-246

26. CIGOLINI,M., SMITH,U.
Human Adipose Tissue in Culture. VIII.Studies on the Insulin-Antagonistic Effect of Glucocorticoids
Metabolism 28 (1979), 502-510

27. COHEN,P.
The Hormonal Control of Glycogen Metabolism in Mammalian Muscle by Multivalent Phosphorylation
Biochem Soc Trans 7 (1979), 459-480

28. CONLEE,R.K., RENNIE,M.J., WINDER,W.W.
Skeletal Muscle Glycogen Content:Diurnal Variation and Effects of Fasting
Am J Physiol 231 (1976), 614-618

29. CONLEE,R.K., HICKSON,R.C., WINDER,W.W., HAGBERG,J.M., HOLLOSZY,J.O.
Regulation of Glycogen Resynthesis in Muscles of Rats Following Exercise
Am J Physiol 235 (1978), R145-R150

30. CRAMPTON,J.H., SCUDDER,S.T., DAVIS,C.D.
Carbohydrate Metabolism in the Combination of Diabetes Mellitus and Addison's Disease,as Illustrated by a Case
J Clin Endocrinol 9 (1949), 245-254

31. CZAKO,L., LASZLO,F.A.
Gemeinsames Vorkommen von Addisonscher Krankheit und Diabetes mellitus
Endokrinologie 58 (1971), 98-102

32. CZECH,M.P., FAIN,J.N.
Antagonism of Insulin Action on Glucose Metabolism in White Fat Cells by Dexamethasone
Endocrinology 91 (1972), 518-522

33. CZOK,R., LAMPRECHT,W.
Pyruvat,Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat-2-phosphat
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U., Hrsg.), Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 1491-1496

34. DAGLEY,S.
Citrat,UV-spektrophotometrische Bestimmung
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U., Hrsg.), Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 1607-1611

35. DAHLMANN,B., SCHROETER,C., HERBERTZ,L., REINAUER,H.
Myofibrillar Protein Degradation and Muscle Proteinases in Normal and Diabetic Rats
Biochem Med 21 (1979), 33-39

36. DANFORTH,W.H.
Glycogen Synthetase Activity in Skeletal Muscle
J Biol Chem 240 (1965), 588-593

37. DANIEL,P.M., LOVE,E.R., PRATT,O.E.
Insulin-Stimulated Entry of Glucose into Muscle in vivo as a Major Factor in the Regulation of Blood Glucose
J Physiol 247 (1975), 273-288

38. DIETERLE,C., GÄRTNER,R., DIETERLE,P.
Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel der Skelettmuskulatur unter Ruhebedingungen und bei kurzfristiger submaximaler Arbeit am Modell des perfundierten Hinterbeins der Ratte
Res Exp Med (Berl) 168 (1976), 23-33

39. EXTON,J.H., PARK,C.R.
Control of Gluconeogenesis in Liver
I. General Features of Gluconeogenesis in the Perfused Livers of Rats
J Biol Chem 242 (1967), 2622-2636

40. FABER,V., GRØNBAEK,P.
Diabetes Mellitus and Addison's Disease
Acta Endocrinol (Copenh) 22 (1956), 145-156

41. FELIG,P., PROZEFSKY,T., MARLISS,E., CAHILL,Jr.,G.F.
Alanine:Key Role in Gluconeogenesis
Science 167 (1970), 1003-1004

42. FELIG,P., MARLISS,E., PROZEFSKY,T., CAHILL,Jr.,G.F.
Amino Acid Metabolism in the Regulation of Gluconeogenesis in Man
Am J Clin Nutr 23 (1970), 986-992

43. FELIG,P.
The Glucose-Alanine Cycle
Metabolism 22 (1973), 179-207

44. FELIG,P., WAHREN,J., KARL,I., CERASI,E., LUFT,R., KIPNIS,D.M.
Glutamine and Glutamate Metabolism in Normal and Diabetic Subjects
Diabetes 22 (1973), 573-576

45. FELIG,P.
Amino Acid Metabolism in Man
Annu Rev Biochem 44 (1975), 933-955

46. FELIG,P., KOIVISTO,V.
Recent Advances in Body Fuel Metabolism
in: Contemporary Metabolism, Vol.1, Ed.by N.FREINKEL
Plenum Medical Book Company,New York,London
(1979), 359-384

47. FELL,R.D., MC LANE,J.A., WINDER,W.W., HOLLOSZY,J.O.
Preferential Resynthesis of Muscle Glycogen in
Fasting Rats after Exhausting Exercise
Am J Physiol 238 (1980), R328-R332

48. FISHMAN,R.A., REINER,M.
Failure of Hydrocortisone to Alter the Transport
of Hexoses into Rat Brain and Other Tissues
J Neurochem 19 (1972), 2221-2224

49. FULKS,R.M., LI,J.B., GOLDBERG,A.L.
Effects of Insulin,Glucose,and Amino Acids on
Protein Turnover in Rat Diaphragm
J Biol Chem 250 (1975), 290-298

50. GARBER,A.J., KARL,I.E., KIPNIS,D.M.
Alanine and Glutamine Synthesis and Release from
Skeletal Muscle
I. Glycolysis and Amino Acid Release
II. The Precursor Role of Amino Acids in Alanine
and Glutamine Synthesis
III. Dietary and Hormonal Regulation
IV. B-Adrenergic Inhibition of Amino Acid Release
J Biol Chem 251 (1976), 826-857

51. GITTLER,R.D., FAJANS,S.S., CONN,J.W.
Coexistence of Addison's Disease and Diabetes
Mellitus: Report of Three Cases with a Discussion
of Metabolic Interrelationships
J Clin Endocrinol 19 (1959), 797-804

52. GOLDBERG,A.L.
Protein Turnover in Skeletal Muscle
II. Effects of Denervation and Cortisone on Protein
Catabolism in Skeletal Muscle
J Biol Chem 244 (1969), 3223-3229

53. GOLDBERG,A.L., CHANG,W.
Regulation and Significance of Amino Acid Metabolism in Skeletal Muscle
Fed Proc 37 (1978), 2301-2307

54. GOLDBERG,A.L., TISCHLER,M., DE MARTINO,G., GRIFFIN,G.
Hormonal Regulation of Protein Degradation and Synthesis in Skeletal Muscle
Fed Proc 39 (1980), 31-36

55. GOLDMAN,J.K., FROHMAN,L.A.
Effects of Glucocorticoid Administration to Rats on in vitro Intermediary Metabolism
J Pharmacol Exp Ther 188 (1974), 310-317

56. GOLDSTEIN,L., NEWSHOLME,E.A.
The Formation of Alanine from Amino Acids in Diaphragm Muscle of the Rat
Biochem J 154 (1976), 555-558

57. GOLDSTEIN,L., SCHRÖCK,H., CHA,C.-J.
Relationship of Muscle Glutamine Production to Renal Ammonia Metabolism
Biochem Soc Trans 8 (1980), 509-510

58. GOODMAN,M.N., BERGER,M., RUDERMAN,N.B.
Glucose Metabolism in Rat Skeletal Muscle at Rest - Effect of Starvation,Diabetes,Ketone Bodies and Free Fatty Acids
Diabetes 23 (1974), 881-888

59. GROSS,M.D., HARRIS,S., BEYER,R.E.
The Effect of Streptozotocin-Induced Diabetes on Oxidative Phosphorylation and Related Reactions in Skeletal Muscle Mitochondria
Horm Metab Res 4 (1972), 1-7

60. GRUBB,B.
De novo Synthesis of Alanine by the Perfused Rat Hindlimb
Am J Physiol 230 (1976), 1379-1384

61. GUTMANN,I., WAHLEFELD,A.W.
L-(+)-Lactat,Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und NAD
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U., Hrsg.), Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 1510-1514

62. HAGG,S.A., TAYLOR,S.I., RUDERMAN,N.B.
Glucose Metabolism in Perfused Skeletal Muscle - Pyruvate Dehydrogenase Activity in Starvation, Diabetes and Exercise
Biochem J 158 (1976),203-210

63. HAHN VON DORSCHE,H.
Histotopochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Pankreas von Wistar-Ratten mit Streptozotocin-Diabetes
Acta Histochem 64 (1979), 5-19

64. HANDUNE,J., CHAMBAUT,A.M.
Early Responses of Liver to Cortisone in Alloxan-Diabetic Rats
Horm Metab Res 4 (1972), 254-256

65. von HOLT,C., SCHMIDT,H., FELDMANN,H., HALLMANN,I.
Der Umsatz der Blutglucose
Biochem Z 334 (1961), 524-533

66. HORNNES,P., KÜHL,C.
Serum Glucose Determination with Dextrostix and the Eyetone Reflectance Meter
Acta Med Scand 200 (1976), 297-299

67. ISHIKAWA,E., AIKAWA,T., MATSUTAKA,H.
The Roles of Alanine as a Major Precursor among Amino Acids for Hepatic Gluconeogenesis and as a Major End Product of the Degradation of Amino Acids in Rat Tissues
J Biochem 71 (1972), 1097-1099

68. ISHIKAWA,E.
The Regulation of Uptake and Output of Amino Acids by Rat Tissues
Adv Enzyme Regul 14 (1975), 117-136

69. JAWOREK,D., GRUBER,W., BERGMEYER,H.U.
Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U., Hrsg.), Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 2178-2181

70. JEFFERSON,L.S., RANNELS,D.E., MUNGER,B.L., MORGAN,H.E.
Insulin in the Regulation of Protein Turnover in Heart and Skeletal Muscle
Fed Proc 33 (1974), 1098-1104

71. JEFFERSON,L.S., LI,J.B., RANNELS,S.R.
Regulation by Insulin of Amino Acid Release and Protein Turnover in the Perfused Rat Hemicorpus
J Biol Chem 252 (1977), 1476-1483

72. JUNG,N., HÖCHE,D., MEINHOLD,J., ANGER,G.
Gesteigerte Insulinempfindlichkeit als erster Hinweis auf Morbus Addison bei einem juvenilen Diabetiker
Z Inn Med 31 (1976), 294-296

73. JUNOD,A., LAMBERT,A.E., STAUFFACHER,W., RENOLD,A.E.
Diabetogenic Action of Streptozotocin: Relationship of Dose to Metabolic Response
J Clin Invest 48 (1969), 2129-2139

74. KOGUT,M.D., BRINEGAR,Jr.,C.H.
Addison's Disease and Diabetes Mellitus
J Pediatr 81 (1972), 307-311

75. KOMINZ,D.R., HOUGH,A., SYMONDS,P., LAKI,K.
The Amino Acid Composition of Actin,Myosin,Tropomyosin and the Meromyosins
Arch Biochem Biophys 50 (1954), 148-159

76. KRAHL,M.E., CORI,C.F.
The Uptake of Glucose by the Isolated Diaphragm of Normal,Diabetic,and Adrenalectomized Rats
J Biol Chem 170 (1947), 607-618

77. KREUTNER,W., GOLDBERG,N.D.
Dependence on Insulin of the Apparent Hydrocortisone Activation of Hepatic Glycogen Synthetase
Proc Natl Acad Sci USA 58 (1967), 1515-1519

78. KRÖNER,H., STAIB,W.
Cortisolwirkungen auf den Protein- und Energiestoffwechsel in der Peripherie
Acta Endocrinol (Copenh) 59 (1968), 193-202

79. KÜHL,C.
Dipping Procedure for Blood Glucose Determination with Dextrostix and the Eyetone Reflectance Meter
Acta Med Scand 197 (1975), 467-469

80. KÜHN-VELTEN,N.
Regulationsmechanismen am insulinfrei perfundierten Hinterkörper der Ratte:
Stoffwechseländerungen durch unterschiedlich hohe Glucoseangebote sowie durch Adrenalektomie und einmalige Betamethasonapplikation in vivo
Diss med (1977), Universität Düsseldorf

81. LAMPRECHT,W., TRAUTSCHOLD,I.
Adenosin-5'-triphosphat,Bestimmung mit Hexokinase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U.,Hrsg.),Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 2151-2160

82. LANG,G., MICHAL,G.
D-Glucose-6-phosphat und D-Fructose-6-phosphat
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U.,Hrsg.),Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 1283-1287

83. LEUNG,K., MUNCK,A.
Peripheral Actions of Glucocorticoids
Annu Rev Physiol 37 (1975), 245-272

84. LEWIS,S.B., SCHULTZ,T.A., WESTBIE,D.K., GERICH,J.E., WALLIN,J.D.
Insulin-Glucose Dynamics during Flow-Through Perfusion of the Isolated Rat Hindlimb
Horm Metab Res 9 (1977), 190-195

85. LOWRY,O.H.
Metabolite Levels as Indicators of Control Mechanisms
Fed Proc 25 (1966), 846-849

86. LUND,P.
L-Glutamin,Bestimmung mit Glutaminase und Glutamat-Dehydrogenase
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U., Hrsg.), Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 1767-1769

87. MAC DONALD,M., NEUFELDT,N., PARK,B.N., BERGER,M., RUDERMAN,N.
Alanine Metabolism and Gluconeogenesis in the Rat
Am J Physiol 231 (1976), 619-625

88. MALLETTE,L.E., EXTON,J.H., PARK,C.R.
Control of Gluconeogenesis from Amino Acids in the Perfused Rat Liver
J Biol Chem 244 (1969), 5713-5723

89. MANCHESTER,K.L.
Insulin and Protein Synthesis
in: Biochemical Actions of Hormones, Vol.1, Ed. by G.LITWACK; Academic Press,New York and London 1970, 267-320

90. MATSUI,N., PLAGER,J.E.
"Anti-Insulin" Action of Cortisol.1.Influence of Cortisol on the Metabolism of Specifically Labeled Glucose,Pyruvate and Glucose-6-phosphate
Endocrinology 84 (1969), 1439-1449

91. MAYER,M., AMIN,R., SHAFRIR,E.
Rat Myofibrillar Protease:Enzyme Properties and Adaptive Changes in Conditions of Muscle Protein Degradation
Arch Biochem Biophys 161 (1974), 20-25

92. MAYER,M., KAISER,N., MILHOLLAND,R.J., ROSEN,F.
Cortisol Binding in Rat Skeletal Muscle
J Biol Chem 250 (1975), 1207-1211

93. MAYER,M., ROSEN,F.
Glucocorticoid Receptors in Skeletal Muscle
Isr J Med Sci 11 (1975), 699-707

94. MAYER,M., SHAFRIR,E., KAISER,N., MILHOLLAND,R.J., ROSEN,F.
Interaction of Glucocorticoid Hormones with Rat Skeletal Muscle:Catabolic Effects and Hormone Binding
Metabolism 25 (1976), 157-167

95. MAYER,M., ROSEN,F.
Effect of Endocrine Manipulations on Glucocorticoid Binding Capacity in Rat Skeletal Muscle
Acta Endocrinol (Copenh) 88 (1978), 199-208

96. MAYOREK,N., PINSON,A., MAYER,M.
Intracellular Proteolysis in Rat Cardiac and Skeletal Muscle Cells in Culture
J Cell Physiol 98 (1979), 587-596

97. MC LEAN BAIRD,I., MUNRO,D.S.
Addison's Disease with Diabetes Mellitus - A Case Treated with Cortisone
Lancet 266 (1954), 962-964

98. MIMOUNI,M., GALATZER,A., MADANES,L., LEW,E., DORON,M., LARON,Z.
Reliability of the Eyetone Instrument and the Reflectance Meter in Instant Blood Glucose Determinations
Isr J Med Sci 14 (1978), 319-323

99. MUNCK,A., KORITZ,S.B.
Studies on the Mode of Action of Glucocorticoids in Rats 1.Early Effects of Cortisol on Blood Glucose and on Glucose Entry into Muscle,Liver and Adipose Tissue
Biochim Biophys Acta 57 (1962), 310-317

100. MUNCK,A.
Glucocorticoid Inhibition of Glucose Uptake by Peripheral Tissues:Old and New Evidence,Molecular Mechanisms,and Physiological Significance
Perspect Biol Med 14 (1971), 265-289

101. NEWSHOLME,E.A.
Carbohydrate Metabolism in vivo:
Regulation of the Blood Glucose Level
Clin Endocrinol Metab 5 (1976), 543-578

102. ODESSEY,R., KHAIRALLAH,E.A., GOLDBERG,A.L.
Origin and Possible Significance of Alanine Production by Skeletal Muscle
J Biol Chem 249 (1974), 7623-7629

103. OVERELL,B.G., CONDON,S.E., PETROW,V.
The Effect of Hormones and Their Analogues upon the Uptake of Glucose by Mouse Skin in vitro
J Pharm Pharmacol 12 (1960), 150-153

104. PARDRIDGE,W.M., DAVIDSON,M.B.
Alanine Metabolism in Skeletal Muscle in Tissue Culture
Biochim Biophys Acta 585 (1979), 34-42

105. PROZEFSKY,T., FELIG,P., TOBIN,J.D., SOELDNER,J.S., CAHILL,Jr.,G.F.
Amino Acid Balance across Tissues of the Forearm in Postabsorptive Man.Effects of Insulin at Two Dose Levels
J Clin Invest 48 (1969), 2273-2282

106. RAKIETEN,N., RAKIETEN,M.L., NADKARNI,M.V.
Studies on the Diabetogenic Action of Streptozotocin
Cancer Chemother Rep 29 (1963), 91-98

107. RANDLE,P.J., GARLAND,P.B., HALES,C.N., NEWSHOLME,E.A.
The Glucose Fatty-Acid Cycle
- Its Role in Insulin Sensitivity and the Metabolic Disturbances of Diabetes Mellitus
Lancet I (1963), 785-789

108. RANDLE,P.J., GARLAND,P.B., HALES,C.N., NEWSHOLME,E.A., DENTON,R.M., POGSON,C.I.
Interactions of Metabolism and the Physiological Role of Insulin
Recent Prog Horm Res 22 (1966), 1-48

109. REIMER,F., LÖFFLER,G., HENNIG,G., WIELAND,O.H.
The Influence of Insulin on Glucose and Fatty Acid Metabolism in the Isolated Perfused Rat Hind Quarter
Hoppe Seylers Z Physiol Chem 366 (1975), 1055-1066

110. RENNIE,M.J., HOLLOSZY,J.O.
Inhibition of Glucose Uptake and Glycogenolysis by Availability of Oleate in Well-Oxygenated Perfused Skeletal Muscle
Biochem J 168 (1977), 161-170

111. RHIND,E.G.G., WILSON,A.
Diabetes Mellitus in Addison's Disease
Lancet II (1941), 37-39

112. RIDDICK,Jr.,F.A., REISLER,D.M., KIPNIS,D.M.
The Sugar Transport System in Striated Muscle
- Effect of Growth Hormone,Hydrocortisone and Alloxan Diabetes
Diabetes 11 (1962), 171-178

113. RÖTHIG,H.-J., STILLER,N., DAHLMANN,B., REINAUER,H.
Insulin Effect on Proteolytic Activities in Rat Skeletal Muscle
Horm Metab Res 10 (1978), 101-104

114. ROSS,B.D., HEMS,R., KREBS,H.A.
The Rate of Gluconeogenesis from Various Precursors in the Perfused Rat Liver
Biochem J 102 (1967), 942-951

115. RUDAS,B.
Streptozotocin
Arzneim Forsch 22 (1972), 830-861

116. RUDERMAN,N.B., HOUGHTON,C.R.S., HEMS,R.
Evaluation of the Isolated Perfused Rat Hindquarter for the Study of Muscle Metabolism
Biochem J 124 (1971), 639-651

117. RUDERMAN,N.B., LUND,P.
Amino Acid Metabolism in Skeletal Muscle
- Regulation of Glutamine and Alanine Release in the Perfused Rat Hindquarter
Isr J Med Sci 8 (1972), 295-302

118. RUDERMAN,N.B., BERGER,M.
The Formation of Glutamine and Alanine in Skeletal Muscle
J Biol Chem 249 (1974), 5500-5506

119. RUDERMAN,N.B.
Muscle Amino Acid Metabolism and Gluconeogenesis
Annu Rev Med 26 (1975), 245-258

120. RUDERMAN,N.B., GOODMAN,M.N., BERGER,M., HAGG,S.
Effect of Starvation on Muscle Glucose Metabolism: Studies with the Isolated Perfused Rat Hindquarter
Fed Proc 36 (1977), 171-176

121. RUDERMAN,N.B., SCHMAHL,F.W., GOODMAN,M.N.
Regulation of Alanine Formation and Release in Rat Muscle in vivo:Effect of Starvation and Diabetes
Am J Physiol 233 (1977), E109-E114

122. SAPIR,D.G., PROZEFSKY,T., KNOCHEL,J.P., WALSER,M.
The Role of Alanine and Glutamine in Steroid-Induced Nitrogen Wasting in Man
Clin Sci Mol Med 53 (1977), 215-220

123. SCHADEWALDT,P.
Glucocorticoidwirkungen auf den Kohlenhydrat- und Aminosäurestoffwechsel des Skelettmuskels
Diss rer nat (1980), Universität Düsseldorf

124. SCHWENEN,M.
Hormonal Regulation of Alanine Release from the Isolated Perfused Rat Hindquarter
Vortrag anläßlich der 30. Konferenz der Gesellschaft für Biologische Chemie, Universität Düsseldorf, 27.-29. Mai 1980

125. SCHWENEN,M., SCHADEWALDT,P., COONE,H.J., STAIB,W.
Hormonal Regulation of Alanine Release from the Isolated Perfused Rat Hindquarter
Hoppe Seylers Z Physiol Chem 361 (1980), 615-616

126. SCHWENEN,M.
Glucocorticoid- und insulinabhängige Regulation der Alaninfreisetzung aus der Skelettmuskulatur
Vortrag vom 5. März 1981 anläßlich des 25. Symposions der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Berlin

127. SEIFTER,S., DAYTON,S., NOVIC,B., MUNTWYLER,E.
The Estimation of Glycogen with the Anthrone Reagent
Arch Biochem 25 (1950), 191-200

128. SHOJI,S., PENNINGTON,R.J.T.
The Effect of Cortisone on Protein Breakdown and Synthesis in Rat Skeletal Muscle
Mol Cell Endocrinol 6 (1977), 159-169

129. SIMPSON,S.L.
Addison's Disease and Diabetes Mellitus
Proc R Soc Med 43 (1950), 358-359

130. SMITH,O.K., LONG,C.N.H.
Effect of Cortisol on the Plasma Amino Nitrogen of Eviscerated Adrenalectomized-Diabetic Rats
Endocrinology 80 (1967), 561-566

131. SMITH,O.K.
Effect of Cortisol on the Metabolism of Glucose in Eviscerated Adrenalectomized-Diabetic Rats
Endocrinology 82 (1968), 447-452

132. SNELL,K.
Alanine Release by Rat Hemidiaphragm Muscle in vitro
Biochem Soc Trans 4 (1976), 287-288

133. SNELL,K., DUFF,D.A.
Alanine and Glutamine Formation by Muscle
Biochem Soc Trans 8 (1980), 501-504

134. SPRAGUE,R.G., POWER,M.H., MASON,H.L., CLUXTON,H.E.
Metabolic Effects of Synthetic Compound E (17-Hydroxy-11-Dehydrocorticosterone) in 2 Patients with Addison's Disease and in 1 with Coexisting Addison's Disease and Diabetes Mellitus
J Clin Invest 28 (1949), 812

135. SPYDEVOLD,Ø.
Sources of Carbon Skeleton of Alanine Released from Skeletal Muscle
Acta Physiol Scand 97 (1976), 273-280

136. STASCHOK,W.
Zeitliche Entwicklung,Insulin- und Actinomycin-D-Beeinflussung der akuten Glucocorticoidwirkungen am isoliert perfundierten Hinterkörper adrenalektomierter Ratten
Diss med (1978), Universität Düsseldorf

137. STEELE,R.
Influences of Corticosteroids on Protein and Carbohydrate Metabolism
in: Handbook of Physiology (GEIGER,S.R., ed.), Sect 7, Vol 6: Adrenal Gland, Washington D.C. (1975), 135-167

138. STEWART,T.C.
Evaluation of a Reagent-Strip Method for Glucose in Whole Blood,as Compared with a Hexokinase Method
Clin Chem 22 (1976), 74-78

139. TEICHMANN,G., LEUPOLD,H.
Kombination von Morbus Addison und Diabetes mellitus
Endokrinologie 32 (1955), 160-164

140. THIENHAUS,R., THARANDT,L., ZAIS,U., STAIB,W.
Einfluß von Glucocorticoiden auf die Freisetzung von Aminosäuren des perfundierten Hinterkörpers adrenalektomierter Ratten
Hoppe Seylers Z Physiol Chem 356 (1975), 811-817

141. THOMPSON,E.B., LIPPMAN,M.E.
Mechanism of Action of Glucocorticoids
Metabolism 23 (1974), 159-202

142. TOMAS,F.M., MUNRO,H.N., YOUNG,V.R.
Effect of Glucocorticoid Administration on the Rate of Muscle Protein Breakdown in vivo in Rats,as Measured by Urinary Excretion of N^{τ}-Methylhistidine
Biochem J 178 (1979), 139-146

143. UMBER,F.
Insulinbehandlung diabetischer Addisonkranker
Med Klin 1 (1928), 8-10

144. VILLAR-PALASI,C., LARNER,J.
The Hormonal Regulation of Glycogen Metabolism in Muscle
Vitam Horm 26 (1968), 65-118

145. WATERHOUSE,C., KEILSON,J.
The Contribution of Glucose to Alanine Metabolism in Man
J Lab Clin Med 92 (1978), 803-812

146. WERNER,W., REY,H.-G., WIELINGER,H.
Über die Eigenschaften eines neuen Chromogens für die Blutzuckerbestimmung nach der GOD/POD-Methode
Z Anal Chem 252 (1970), 224-228

147. WILLIAMSON,D.H.
L-Alanin,Bestimmung mit Alanin-Dehydrogenase
in: Methoden der enzymatischen Analyse (BERGMEYER, H.U., Hrsg.), Verlag Chemie,Weinheim; (^{3}1974),Bd.II, 1724-1727

148. WINDMUELLER,H.G., SPAETH,A.E.
Identification of Ketone Bodies and Glutamine as the Major Respiratory Fuels in vivo for Postabsorptive Rat Small Intestine
J Biol Chem 253 (1978), 69-76

149. WOOL,I.G.
Relation of Effects of Insulin on Amino Acid Transport and on Protein Synthesis
Fed Proc 24 (1965), 1060-1070

150. WOOL,I.G.
Insulin and the Regulation of Protein Synthesis in Muscle
Proc Nutr Soc 31 (1972), 185-191

151. Documenta GEIGY,Wissenschaftliche Tabellen, Basel, (^{6}1960), 32

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. Wolfgang Staib,der mir freundlicherweise das Thema dieser Arbeit überließ, den Arbeitsplatz zur Verfügung stellte und den Fortgang der Experimente wohlwollend förderte.
Herrn Dr. Martin Schwenen habe ich zu danken für das Bekanntmachen mit dem Arbeitsgebiet und die tätige Mithilfe bei den Tieroperationen und Perfusionsversuchen. Sein Rat bei der Abfassung der Niederschrift war mir eine wertvolle Hilfe.
Herzlich gedankt sei Frau Grete Hannemann.Ohne ihre nimmermüde Mitarbeit wäre die Arbeit nicht zustande gekommen.

Lebenslauf

17. Februar 1958	-	geboren als zweiter Sohn der Eheleute Ludwig und Marianne Coone, geb. Nitsche in Radevormwald
1964 - 1967	-	Besuch der Volksschule in Radevormwald
1967 - 1976	-	Besuch des neusprachlichen Zweiges des Gymnasiums Schwertstraße Solingen
4. Juni 1976	-	Ablegen der Reifeprüfung daselbst
Wintersemester 1976/77	-	Immatrikulation an der Universität Düsseldorf im Fach Humanmedizin
25. August 1978	-	Bestehen der Ärztlichen Vorprüfung
30. August 1979	-	Bestehen des Ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
21. August 1981	-	Bestehen des Zweiten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung
seit dem 19. Oktober 1981	-	Ableisten des Praktischen Jahres an den Medizinischen Einrichtungen der Universität Düsseldorf